

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SBF ORTAMINDA ÜRETİLEN HİDROKSİAPATİT-JELATİN KOMPOZİT
MALZEMELERİN İLAÇ SALIM PERFORMANSININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ebru KAHRAMAN

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Kimya Mühendisliği Programı

Haziran 2016

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SBF ORTAMINDA ÜRETİLEN HİDROKSİAPATİT-JELATİN KOMPOZİT
MALZEMELERİN İLAÇ SALIM PERFORMANSININ İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ebru KAHRAMAN

(506141005)

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Gülhayat NASÜN SAYGILI

Haziran 2016

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 506141005 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Ebru KAHRAMAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “SBF ORTAMINDA ÜRETİLEN HİDROKSİAPATİT-JELATİN KOMPOZİT MALZEMELERİN İLAÇ SALIM PERFORMANSININ İNCELENMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Gülhayat Nasün SAYGILI**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Seniha GÜNER**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Mualla ÖNER**
Yıldız Teknik Üniversitesi

Teslim Tarihi : **2 Mayıs 2016**

Savunma Tarihi : **8 Haziran 2016**



ÖNSÖZ

Tez danışmanım ve sevgili hocam Prof. Dr. Gülhayat NASÜN SAYGILI'ya yardım ve destekleri için teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Dr. Nalan ERDÖL AYDIN ve Tuğba BAŞARGAN ÖZSAĞIROĞLU'na, XRD analizleri için Prof. Dr. Lütfi ÖVEÇOĞLU'na, TGA analizleri için Prof. Dr. Seniha GÜNER'e, beni yalnız bırakmayan Seçkin HACIOĞLU ve Burak GÜLEN'e teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan aileme, Elif ADALI'ya ve Gözde DALAN'a sabır ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Haziran 2016

EBRU KAHRAMAN
(Kimya Mühendisi)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET.....	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
2. HİDROKSİAPATİT	5
2.1. Hidroksiapatit Genel Özellikleri	5
2.2. Hidroksiapatit Üretim Yöntemleri	7
2.3. Hidroksiapatit Kullanım Alanları.....	10
3. İLAÇ SALIMI.....	11
3.1. Genel Bilgiler.....	11
3.1.1. İlaç salım kinetiği.....	12
3.1.1.1. Modellemeye bağlı yöntemler.....	13
3.1.1.2. Modellemeden bağımsız yöntemler	16
3.2. Hidroksiapatit ile Yapılan İlaç Salımı Çalışmaları	16
3.3. Jelatin	18
3.3.1. Jelatin genel özellikleri	18
3.3.2. Jelatin ile yapılan ilaç salımı çalışmaları	20
3.4. 5-FU (Fluorouracil).....	21
3.4.1. 5-FU genel özellikleri	21
3.4.2. 5-FU ile yapılan ilaç salımı çalışmaları	22
3.5. Hidroksiapatit-Polimer Kompozitleri.....	24
3.5.1. Hidroksiapatit-Jelatin kompozitleri.....	25
3.5.2. Hidroksiapatit-Jelatin ile yapılan ilaç salımı çalışmaları	26
4. PÜSKÜRTMELİ KURUTUCU	29
5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	31
5.1. Materyal ve Yöntem.....	31
5.1.1. Kullanılan kimyasallar & araç ve gereçler.....	31
5.1.2. Kullanılan çözeltiler	32
5.2. Deneysel Yöntem	33
5.2.1. Deney düzeneği.....	33
5.2.2. HAp-GEL kompozit malzemenin SBF ortamında üretilmesi.....	33
5.2.3. İlaç yüklü HAp-GEL kompozitleri eldesi	37
5.2.3.1. Absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenmesi.....	37
5.2.3.2. Püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklenmesi	37

5.2.4. İlaç yükleme verimi ölçümü.....	37
5.2.4.1. Kalibrasyon eğrisi hazırlanması	37
5.2.4.2. HAp-GEL numunelerinin ilaç yükleme verimi ölçümü.....	38
5.2.5. PBS ortamında ilaç salımı deneyleri	38
6. SONUÇLAR VE YORUMLAR.....	39
6.1. HAp-GEL Kompozit Deney Sonuçları	39
6.1.1. Yaş çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL kompozitlerin.....	39
6.1.1.1. XRD analizi.....	39
6.1.1.2. TGA analizi	41
6.1.1.3. FTIR Analizi	48
6.2. İlaç Yükleme ve Salım Deney Sonuçları	53
6.2.1. İlaç yüklü HAp-GEL kompozitlerin incelenmesi	53
6.2.1.1. EDS analizi sonuçları	53
6.2.1.2. FTIR analizi.....	55
6.2.1.3. SEM Analizi.....	58
6.2.2. İlaç yükleme verimi ölçüm sonuçları	62
6.2.2.1. Absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenen kompozit verimleri	62
6.2.2.2. Püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklenen kompozit verimleri	62
6.2.3. İlaç yüklü HAp-GEL kompozitlerin salım profilleri.....	63
7. VARGILAR VE ÖNERİLER	79
KAYNAKLAR.....	81
ÖZGEÇMİŞ.....	85

KISALTMALAR

FTIR	: Fourier transform infrared spektroskopisi
GA	: Gluteraldehit
GEL	: Jelatin
HAp	: Hidroksiapatit
MIC	: En az inhibisyon konsantrasyonu
PEG	: Polietilen glikol
PLGA	: Poli(laktik-ko-glikolid)
PLA	: Poli(laktik asit)
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
PMM	: Poli(metiliden malonat 2.1.2)
PPF	: Polipropilen fumarat
SBF	: Yapay vücut sıvısı
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TGA	: Isıl gravimetrik analiz
XRD	: X-Işınları Kırınımı
5-FU	: Fluorouracil



SEMBOLLER

- D** : Matris içerisindeki ilaç difüzyon katsayısı
K₀ : Sıfır derece salınım katsayısı
K : Birinci derece hız sabiti
κ : Yüzey-hacim ilişkisini oluşturan sabit
K_H : Higuchi çözünme katsayısını
n : Salım üsteli





ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1: İlaç salım eğrilerini tanımlamak için kullanılan matematik modeller....	13
Çizelge 3.2: Korsmeyer-Peppas denklemi n değerine göre salım mekanizmaları	15
Çizelge 3.3: Gözenekli hidroksiapatit esaslı ilaç taşıma sistemleri.....	17
Çizelge 5.1: 1L SBF için kimyasal miktarları	32
Çizelge 6.1: Teorik ve deneysel HAp-GEL kompozit miktarları.....	39
Çizelge 6.2: HAp-GEL kompozitlerinin içerdiği bağlar.	49
Çizelge 6.3: HAp-GEL numunelerine ait Ca/P oranları.....	54
Çizelge 6.4: SBF içerisinde kalsiyum fosfat çökmesi süresince gerçekleşen reaksiyonlar.	54
Çizelge 6.5: 5-FU karakteristik pikleri	57
Çizelge 6.6: Absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenen kompozit verimleri.	62
Çizelge 6.7: HAp-GEL kompozitlerine ait ilaç yükleme verimleri.....	62
Çizelge 6.8: Kinetik model parametreleri.....	72
Çizelge 6.9: HAp- GEL kompozitleri ilaç salım hızları.....	75



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: a) Hidroksiapatit atomik yapısı, b) Hidroksiapatitin c eksenini boyunca izdüşümü	6
Şekil 2.2: Hidroksiapatit kristal yapısı	7
Şekil 3.1: İlaç taşınım sistemleri tarihsel gelişimi	11
Şekil 3.2: Jelatin yapısı	18
Şekil 3.3: Jelatinde bulunan amino asit yapıları	19
Şekil 3.4: 5-FU kimyasal yapısı	21
Şekil 5.1: Yaş çöktürme yöntemi deney düzeneği	34
Şekil 5.2: Püskürtmeli kurutucu	34
Şekil 5.3: Jelatin ve glüteraldehit arasında çapraz bağ oluşumu	35
Şekil 5.4: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması	36
Şekil 6.1: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması	40
Şekil 6.2: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması	41
Şekil 6.3: %2'lik glüteraldehit çözeltisi ile çaprazlanmış HAp-GEL kompozitlerin TGA analizi sonuçları	42
Şekil 6.4: Kompozitlerdeki teorik ve deneysel HAp-GEL oranları	42
Şekil 6.5: %2 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin TGA analizi	43
Şekil 6.6: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması	44
Şekil 6.7: %2 GA HAp-GEL 1:4 kompozitinin TGA analizi	45
Şekil 6.8: %5 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin TGA analizi	46
Şekil 6.9: %2 GA ve %5 GA HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı TGA analizi	47
Şekil 6.10: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması	48
Şekil 6.11: %2 GA HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	49
Şekil 6.12: %2 ve %5 GA 1:1 HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	51
Şekil 6.13: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması	52
Şekil 6.14: EDS analizi sonuçları	53
Şekil 6.15: %2 GA HAp-GEL 1:1 ilaı ve ilaçsız kompozitinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	55
Şekil 6.16: %2 GA HAp-GEL 1:2 ilaı ve ilaçsız kompozitinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	56
Şekil 6.17: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması	57
Şekil 6.18: %5 GA HAp-GEL 1:1 ilaı ve ilaçsız kompozitinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları	58
Şekil 6.19: %2 GA HAp-GEL 1:1 SEM analizi sonuçları	59
Şekil 6.20: %2 GA HAp-GEL 1:2 SEM analizi sonuçları	60
Şekil 6.21: %2 GA HAp-GEL 1:4 SEM analizi sonuçları	60
Şekil 6.22: %5 GA HAp-GEL 1:1 SEM analizi sonuçları	61
Şekil 6.23: Farklı glüteraldehit ve jelatin oranlarına sahip HAp-GEL kompozitlerinin SEM analizi	61
Şekil 6.24: %2'lik glüteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili	64
Şekil 6.25: %2'lik glüteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili	64

Şekil 6.26: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.....	65
Şekil 6.27: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.	65
Şekil 6.28: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili.	66
Şekil 6.29: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili.	66
Şekil 6.30: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.....	67
Şekil 6.31: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.	67
Şekil 6.32: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili.	68
Şekil 6.33: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili.	68
Şekil 6.34: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.....	69
Şekil 6.35: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.	69
Şekil 6.36: %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili.	70
Şekil 6.37: %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili.	70
Şekil 6.38: %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.....	71
Şekil 6.39: %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.	71
Şekil 6.40: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin sıfır derece kinetik modele göre salım profilleri.....	73
Şekil 6.41: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin birinci derece kinetik modele göre salım profilleri....	73
Şekil 6.42: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin Higuchi kinetik modeline göre salım profilleri.	74
Şekil 6.43: %2'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profilleri.	74
Şekil 6.44: %2'lik ve %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin sıfır derece kinetik modele göre salım profilleri.....	76
Şekil 6.45: %2'lik ve %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin birinci derece kinetik modele göre salım profilleri.....	77
Şekil 6.46: %2'lik ve %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin Higuchi kinetik modele göre salım profilleri.....	77
Şekil 6.47: %2'lik ve %5'lik gluteralehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin Korsmeyer-Peppas kinetik modele göre salım profilleri.	78

SBF ORTAMINDA ÜRETİLEN HİDROKSİAPATİT-JELATİN KOMPOZİT MALZEMELERİN İLAÇ SALIM PERFORMANSININ İNCELENMESİ

ÖZET

Hidroksiapatit, (HAp, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) apatit benzeri kemik yapısına sahip, kemik ve diş bileşiminde bulunan bir biyoseramik malzemedir. Biyoyumluluğu, biyoaktifliği ve toksik olmaması sebebi ile yapay kemik malzemesi, kemik ve diş implantları, ilaç salımı gibi uygulamalarda kullanımı bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, nanoboyutlu HAp parçacıklarının farklı tümör türleri üzerinde gelişimi önleyici etki gösterdiği görülmüştür. Bu nedenle, yalnızca HAp veya HAp içeren kompozit malzemeler kontrollü ilaç salımı uygulamalarında ilaç taşıyıcı ortam olarak tercih edilebilmektedirler. Ancak, oldukça kırılğan ve sert bir yapıya sahip olması, hidroksiapatitin yalnız başına klinik uygulamalarda kullanımını sınırlandırmaktadır. Hidroksiapatitin mekanik yapısının getirdiği dezavantajlar, polimer bir malzeme ile kompozit halinde kullanımı ile azaltılabilmektedir.

Son yıllarda, seramik/polimer malzemelerin ilaç taşıyıcı olarak kullanımına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Farklı bozunma hızı ve mekanizmasına sahip biyobozunur polimerlerin seramik malzemelere eklenmesi ile, çeşitli ilaç salım profilleri elde edilebilmektedir. İlaç salım sistemlerinde polilaktik/poliglolik asit, proteinler (kollajen, jelatin, fibrin, vb.), karbonhidratlar (kitin, kitosan, nişasta, alginat, vb.) ve polikarbonat, polipropilen fumarat (PPF), polietilen glikol (PEG), naylon, polipropilen gibi polimer kullanılmaktadır. Polimerlerin çapraz bağlanması amacı ile genipin, kalsiyum klorür, glutraldehit vb. çapraz bağlama ajanları kullanılabilir. İstenilen pH değerini ve polimerin çözünmesini sağlamak amacı ile farklı çözücüler kullanılabilir. Kullanılan tüm bu malzemeler, geliştirilen ilaç salım sisteminin biyoyumluluğunu etkilemektedir.

Sistematik olarak antibiyotik ile gerçekleştirilen tedavilerin istenmeyen yan etkileri ve yüksek maliyetli olması sebebi ile, ilaç yüklü kompozit malzemeler ile yapılan kontrollü ilaç salımı çalışmaları önem kazanmıştır. Biyoaktif malzemeler ile yapılan ilaç salımı çalışmalarında, ilaç salımının malzemenin gözenekliliği ve geçirgenliği ile bağlantılı olduğu gözlenmiştir. Kemik inorganik fazının yapısına oldukça benzer gözenekli bir yapıya sahip olması HAp'ı ilaç yüklemesi için tercih edilen bir malzeme haline getirmiştir.

Bu çalışmada, öncelikle SBF (Simulated Body Fluid) ortamında hidroksiapatit-jelatin (HAp-GEL) kompozit malzeme üretimi ve püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklemesi yapılmıştır. HAp-GEL kompozitleri çöktürme yöntemi ile hazırlanmış ve çapraz bağlama ajanı olarak glutraldehit (GA) kullanılmıştır. Farklı glutraldehit ve jelatin miktarları ile çalışılarak glutraldehit ve jelatinin ilaç yükleme verimi ile birlikte ilaç salım profili üzerine etkisi incelenmiştir. İlaç olarak 5-Fluorouracil (5-FU) kullanılmıştır. İlaç salım profilleri Sıfır Derece, Birinci Derece, Higuchi ve Korsmeyer—Peppas olmak üzere dört farklı kinetik modele göre oluşturulmuştur.

Elde edilen kompozitlerin karakterizasyonu Fourier transform infrared spektroskopisi (FTIR), Taramalı elektron mikroskopu (SEM), Isıl gravimetrik analiz (TGA) ve X-Işını difraktometresi kullanılarak yapılmıştır.

Absorpsiyon ve püskürtmeli kurutucu yöntemleri karşılaştırıldığında, püskürtmeli kurutucu ile daha yüksek verimli yükleme yapıldığı belirlenmiştir. İlaç salım profillerine göre, kompozitlerdeki jelatin miktarı arttıkça ilk ani salımın arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, toplamda salım hızı jelatin miktarı arttıkça azalmıştır. İlk ani salımın olası yan etkilere sebep olması ve ilacın etkinliğini azaltması nedeni ile, kontrollü ilaç salımı için jelatin oranı az olan HAp-GEL kompozitlerinin daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Çapraz bağlama ajanı oranı artırıldığında da benzer şekilde ilk ani salımın arttığı gözlenmiştir. Gluteraldehitin toksik yapısı da göz önüne alındığında, düşük gluteraldehitli kompozitlerin ilaç salım uygulamalarında kullanıma daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışılan dört farklı kinetik model içerisinde, HAp-GEL kompozitlerinin en fazla Brinici Derece kinetik modele uygunluk gösterdiği görülmüştür.



RESEARCH ON DRUG RELEASE PERFORMANCE OF HYDROXYAPATITE-GELATIN COMPOSITES PRODUCED IN SBF MEDIUM

SUMMARY

Hydroxyapatite (HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) is a bio ceramic material found in bone and teeth composition which has apatite-like structure. In spite of its biocompatibility, bioactivity and nontoxicity, hydroxyapatite has been used for synthetic bone material production, bone and teeth implants and drug delivery applications. In recent studies, it has been concluded that hydroxyapatite nanoparticles has inhibition effect on different kind of tumors. Therefore, hydroxyapatite particles or composites including hydroxyapatite have been preferred in controlled drug delivery studies. However, highly fragile and hard structure of hydroxyapatite limited its usage in clinical applications. The mechanical disadvantages of hydroxyapatite can be overcome by using a polymer in order to produce a hydroxyapatite-polymer composite.

In recent years, studies aiming to use ceramic/polymer materials as drug carrier have gained importance. By adding biodegradable polymers with different degradation rate and mechanism to ceramic materials, variety of release profiles can be obtained. In drug release systems polylactic/polyglycolic acid, proteins (collagen, gelatin, fibrin, etc.), carbohydrates (chitin, chitosan, starch, alginate, etc.) and polymers such as polycarbonate, polypropylene fumarate (PPF), polyethylene (PEG), nylon, polypropylene can be used. While crosslink agents including genipin, calcium chloride, glutaraldehyde etc. are used to crosslink polymers, different solvents can be used in order to provide desired pH and to degrade different kind of polymers. All these materials have an impact on the biocompatibility of the drug release system.

One of the polymers used in drug release systems is gelatin which can be used alone or constituent of a composite. Gelatin is obtained by partial hydrolysis of collagen and widely used in food and medicine. Not only being biocompatible, biodegradable and nontoxic, but also economic made gelatin a preferable polymer in drug release studies. In addition, gelatin has an efficient swelling-releasing characteristic, does not produce antigen and does not have a negative effect on cell viability. However, gelatin has some disadvantages such as being soft, very soluble at 37°C and having a low mechanical strength.

Several methods are used for drug loading such as soaking, incorporation, encapsulation, impregnation, vacuum impregnation, adsorption, absorption, spray drying, freeze drying etc. Spray drying is one of the most efficient methods for drug loading. During spray drying process, both drying and particle formation take place. Characteristics of obtained products can be controlled by varying inlet temperature, air flow rate etc. and can be kept continuous. With different spray dryer designs, small or big particulated powder, stack or granules can be obtained. Also, It is possible to produce drug loaded microspheres with uniform size distribution with spray dryer.

Given the side effects and high costs of systematical antibiotic treatments, controlled drug delivery studies performed with drug loaded composite materials have gained importance. In drug delivery studies with bioactive materials, it is observed that permeability and porosity of the material effect the release profile. As a result, having a highly similar structure with bone inorganic phase has caused hydroxyapatite to be preferred in several drug loading studies. In drug release systems, drug release profile generally shows a biphasic release including initial burst followed by a slow release with small changes. Studies show that bacterial growth is observed around the implants when the drug concentration is under MIC (Minimum Inhibition Concentration) value. Initial burst releases from drug release systems can cause side effects. Therefore, in an ideal drug release system drug concentration should be kept above the MIC value and zero order release profile should be maintained in order to minimize side effects.

5-Fluorouracil (5-FU) is a pyrimidin analogue which is widely used in cancer treatment. By preventing the formation of thymine nucleotide which is a constituent of DNA and blocking the phosphate enzyme, 5-FU inhibits DNA and RNA synthesis leading to restraining and slowing down cancer cell growth. 5-FU is widely used for the treatment of colon, rectal, breast, ovary, pancreas, stomach, brain and skin cancer. During treatment with 5-FU, drug is generally injected to body by injection and infusion methods. Because of the fast absorption and toxic characteristic of 5-FU, digestive, neural, dermatological and cardiovascular side effects can occur. In order to maximize therapeutic feature and minimize side effects, by controlled release of 5-FU, encapsulation studies with natural and synthetic polymers are performed. Chitosan, gelatin, poly(lactide-co-glycolide) (PLGA), poly(D,L-lactide) (PLA), poly(methylidene malonate 2.1.2) and pectin are some of the polymers used in 5-FU encapsulation studies. In addition, studies including 5-FU loaded HAp/PLGA and gelatin/chitosan composites are performed.

Drug release mechanism depends on many factors such as drug carrier's pore size, shape, connectivity, drug/carrier interaction, drug/polymer interaction, polymer degradation rate. For that reason, it is important to determine release mechanism before applying. Mathematical models used for determining release kinetics enable evaluating significant physical parameters including drug diffusion coefficient. Also, these models contribute optimization of release process.

In this study, hydroxyapatite-gelatin (HAp-GEL) composites are produced in the presence of SBF (Simulated Body Fluid) and spray dryer is used for obtaining drug loaded composites.

Composites are produced by wet precipitation method implementing glutaraldehyde (GA) as a cross-linking agent. By running experiments with different amounts of gelatin and glutaraldehyde, their effects on encapsulation efficiency and drug release profiles are studied. Drug encapsulation experiments are performed with 5-FU as a selected drug. Drug release profiles are evaluated according to four different kinetic models including Zero Order, First Order, Higuchi and Korsmeyer-Peppas. The obtained composites are characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), Scanning Electron Microscope (SEM), Thermogravimetric Analysis (TGA) and X-Ray Diffraction (XRD).

With XRD and TGA analysis, production of HAp-GEL composites with different HAp/GEL weight ratio is confirmed. XRD analysis show characteristic HAp peaks. In FTIR analysis, characteristic HAp, gelatin and 5-FU peaks are observed. With SEM analysis, production of drug loaded HAp-GEL microspheres are confirmed.

Comparing to absorption method, spray drying shows a much greater drug loading efficiency. According to drug release profiles, it is observed that with increasing gelatin content initial burst increases. Total average release rate of drug from composites decreases with increasing gelatin content. As initial burst release can cause side effects and decrease drug's efficiency, it is concluded that HAp-GEL composites with lower gelatin content are more suitable for controlled drug delivery. When crosslinking agent is increased, an increase in initial burst release is also observed. Considering the toxic characteristic of glutaraldehyde, it is concluded that composites cross-linked with lower amount of glutaraldehyde are more appropriate for drug release applications. Among the four different kinetic models, HAp-GEL composites fitted First Order release model the best.



1. GİRİŞ

5-FU, kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir primidin analogudur. DNA yapı taşlarından bir tanesi olan timin oluşumuna engel olarak hücredeki DNA sentezini, fosfat enzimini bloke ederek RNA sentezini inhibe etme yolu ile kanser hücreleri gelişiminin durması veya yavaşlamasını sağlamaktadır [1]. Kolon, rektum, göğüs, yumurtalık, pankreas, mide, beyin ve cilt kanseri gibi pek çok kanser türünün tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [2].

5-FU'nun vücuda alınması için genellikle enjeksiyon ve enfüzyon yolları tercih ediliyor olsa da, ilacın hızlı emilimi ve toksik karakterde olması sindirim, sinir, deri ve kalp üzerinde etkilere sebep olmaktadır. Tedavi edici özelliği maksimuma çıkarmakla birlikte yan etkileri minimum seviyeye indirmek için kontrollü 5-FU salınımı ile, doğal ve sentetik polimerler kullanarak enkapsülasyon uygulanması üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Kitosan [3], jelatin [4], poli(laktik-ko-glikolid) (PLGA) [5], poli(laktik asit) (PLA) [6], poli(metiliden malonat 2.1.2) (PMM) [7] ve pektin [8] 5-FU yüklenerek ilaç salımı incelenen polimerlerden bazılarıdır. Bununla birlikte, 5-FU yüklü HAp/PLGA [9], jelatin/kitosan [10], gibi kompozit malzemeler ile yapılan kontrollü ilaç salımı çalışmaları bulunmaktadır.

Hidroksiapatit, (HAp, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) apatit benzeri kemik yapısına sahip, kemik ve diş yapısında bulunan bir biyoseramik malzemedir [9]. Biyouyumluluğu, biyoaktifliği ve toksik olmaması sebebi ile yapay kemik malzemesi, kemik ve diş implantları, ilaç salımı gibi uygulamalarda kullanımı bulunmaktadır [11]. Yapılan çalışmalarda, nanoboyutlu HAp parçacıklarının farklı tümör türleri üzerinde gelişimi önleyici etki gösterdiği görülmüştür [12]. Bu nedenle, yalnızca HAp veya HAp içeren kompozit malzemeler kontrollü ilaç salımı uygulamalarında ilaç taşıyıcı ortam olarak tercih edilebilmektedirler. Ancak, oldukça kırılgan ve sert bir yapıya sahip olması, hidroksiapatitin yalnız başına klinik uygulamalarda kullanımını sınırlandırmaktadır [13].

Hidroksiapatitin mekanik yapısının getirdiği dezavantajlar, polimer bir malzeme ile kompozit halinde kullanımı ile azaltılabilmektedir. Jelatin (GEL), gıda ve tıp sektöründe yaygın olarak kullanılan, kollojenin hidrolizi ile elde edilen doğal bir polimerdir. Biyoyumlu ve biyobozunur olması, toksik olmayan yapısı, kolay biçimlendirilebilmesi ve düşük maliyetli olması nedeni ile ilaç salımı uygulamalarında tercih edilmektedir [4]. Bununla birlikte, etkili şişme-salma özelliğine sahiptir, antijen üretmemekte ve hücre canlılığını olumsuz etkilememektedir. Ancak yumuşak yapısı, 37°C’de çözünür olması ve mekanik dayanımının düşük olması dezavantaj yaratabilmektedir [13].

Sistemik olarak antibiyotik ile gerçekleştirilen tedavilerin istenmeyen yan etkileri ve yüksek maliyetli olması sebebi ile, ilaç yüklü kompozit malzemeler ile yapılan kontrollü ilaç salımı çalışmaları önem kazanmıştır. Kontrollü ilaç salımı sistemlerinde, salım profili genel olarak ilk ani salımı takiben ufak değişimler ile sabite yakın konsantrasyonda devam eden salım şeklinde olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, ilaç konsantrasyonunun MIC (en az inhibisyon derişimi) altında seyretmesi durumunda, implantların çevresinde bakteri oluşumu olabildiği gözlenmiştir. Ani ilaç konsantrasyonu artışları ise yan etkilere sebep olabilmektedir. Bu nedenle, ideal ilaç salımı sisteminde ilaç konsantrasyonu MIC değeri üzerinde olmalı ve yan etkileri minimum seviyede tutmak için sıfır derece kinetiğe yakın bir salım profiline sahip olmalıdır [14].

Biyoaktif malzemeler ile yapılan ilaç salımı çalışmalarında, ilaç salımının malzemenin gözenekliliği ve geçirgenliği ile bağlantılı olduğu gözlenmiştir [15]. Kemik inorganik fazının yapısına oldukça benzer gözenekli bir yapıya sahip olması HAp’ı ilaç yüklemesi için tercih edilen bir malzeme haline getirmiştir.

Literatürde ilaç yüklü (ibuprofen, tetracycline vb.) HAp-GEL kompozit malzemelerin salım profilinin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır [14, 16]. Bu çalışmada, SBF (simulated body fluid) ortamında HAp-GEL kompozit malzeme üretimi yapılmış, püskürtmeli kurutucu ile 5-FU yüklü HAp-GEL parçacıkları elde edilmiş, ilaç yükleme verimi ve PBS (phosphate buffer solution) ortamında ilaç salım profili incelenmiştir.

Kompozit içerisindeki jelatin oranının ilaç yükleme verimi ve salımı üzerine etkisini incelemek amacı ile HAp-GEL kompozit malzemesi kütlece 1:1, 1:2 ve 1:4 olmak

üzere üç farklı oranda çöktürme yöntemi ile elde edilmiştir. Kompozitlere GA ile çapraz bağlama yapılmış, GA miktarının ilaç yükleme verimi ve salımı üzerine etkisini incelemek amacı ile iki farklı GA oranı ile HAp-GEL kompozitleri elde edilmiştir.

Elde edilen kompozitlerin yapısal özellikleri XRD, SEM, FTIR ve TGA analizleri ile incelenmiştir.





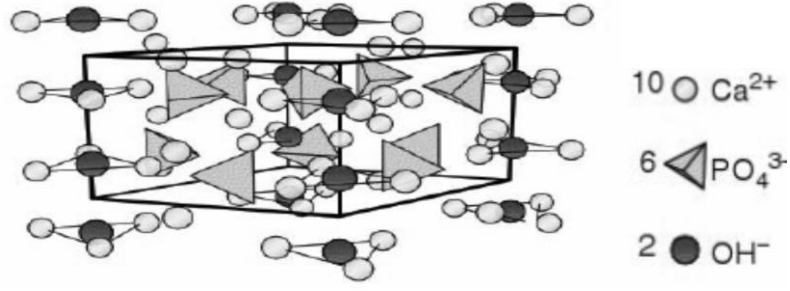
2. HİDROKSİAPATİT

İnsanoğlu antik dönemlerden bu yana zarar görmüş ve yaşlanmış dokuların onarımı için klinik uygulamalara başvurmaktadır. Arkeolojik bulgularda metal, tahta veya farklı türlerden elde edilen organik dokular kullanılarak üretilen implantlara rastlanmıştır. Kemik ve diş dolgusu yapımı amacı ile kullanılan kalsiyum fosfat biyoseramiklerin pek çoğunun doğal kemik kaynaklı olması ile beraber, yapay kalsiyum fosfatların biyomedikal uygulamalarda kullanımı da yaygındır. Tarihte ilk kez 1920 yılında yapay kalsiyum fosfat malzemeden elde edilmiş implant kullanımı görülmüştür. Albee, tavşanlarda cerrahi yol ile oluşturulan kemik hasarlarını tedavi etmek amacı ile trikalsiyum fosfat (TCP) kaynaklı biyoseramik implant ile çalışmalar yapmıştır [17]. 1975 yılında, periodontal cerrahi araştırmalarda kalsiyum fosfat malzemeler yer almış, birkaç yıl sonra ise Denissen ve De Groot diş kökü tedavisi için HAp esaslı silindirler kullanmışlardır [17].

1980'li yıllarda özellikle Hollanda, ABD ve Japonya'da gerçekleştirilen çalışmalar sonucu, kalsiyum fosfat esaslı yapay biyoseramik malzemelerin kullanımı giderek yaygınlaşmıştır. Bununla birlikte, doğal kemik doku esaslı HAp implantlar geliştirilmiştir [17].

2.1. Hidroksiapatit Genel Özellikleri

Hidroksiapatit, (HAp, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) apatit benzeri kemik yapısına sahip, kemik (70%) ve diş (%96) yapısında bulunan bir biyoseramik malzemedir. Ca/P oranı 1,67 olan saf stokiyometrik hidroksiapatit, normal sıcaklık koşullarında ve pH 4-12 aralığında en kararlı olan kalsiyum fosfat özelliği göstermektedir [18]. Genellikle hekzagonal kristal yapıda olmakla birlikte, kafes yapısına ait birim hücre boyutları $a=b=9,432^{\circ}A$, $c=6,881^{\circ}A$, $\gamma=120^{\circ}C$ ve uzay grup simetrisi $P6_3/m$ şeklindedir. Bununla birlikte HAp, birim hücre boyutları $a=9,4214^{\circ}A$, $b=2a$, $c=6,8814^{\circ}A$, $\gamma=120^{\circ}C$ ve uzay grup simetrisi $P2_1/b$ olan monoklinik biçimde de bulunabilmektedir. Hekzagonal ve monoklinik HAp arasındaki başlıca fark, hidroksil



Şekil 2.2: Hidroksiapatit kristal yapısı [17].

HAp implantları hazırlanması için katı hal işlemi (solid-state processing) de sıklıkla kullanılmaktadır. Yüzey alanı ve kristal boyutu gibi özellikler sıcaklık ve sentez yöntemine (kuru veya yaş) göre farklılık göstermekle birlikte, malzemenin biyoreaktifliğinin belirlenmesinde etkili olurlar. Apatit yapısı içerisine bazı anyon ve kationların katılarak yer değiştirmenin gerçekleşmesi sonucu biyoaktifliğin artırılması mümkündür. Stokiyometrik apatit Ca^{2+} ile aynı yükseltgenme basamağına sahip Sr^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} gibi kationları, OH^- ile aynı yükseltgenme basamağına sahip F^- veya Cl^- gibi anyonları içeriyor olabilmektedir. Bununla birlikte, Na^+ , K^+ ve CO_3^{2-} gibi farklı yükseltgenme basamağına sahip iyonlar ile yer değiştirme de oldukça yaygındır [17].

2.2. Hidroksiapatit Üretim Yöntemleri

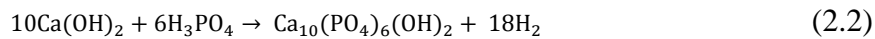
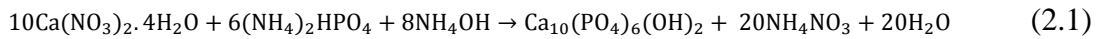
Biyomedikal uygulamalarda kullanılan HAp seramiklerinin biyolojik davranımı kimyasal bileşim, mikroyapı, gözenek boyutu ve gözenek çapı gibi pek çok etkene bağlıdır. Farklı üretim yöntemleri ile, kullanım amacına uygun morfoloji, özgül yüzey, stokiyometri ve kristalliğe sahip HAp elde etmek mümkün olabilmektedir [19]. HAp üretimi için kullanılan başlıca yöntemler aşağıdaki gibidir,

- 1) Yaş kimyasal
- 2) Hidrotermal
- 3) Sol-gel
- 4) Katı hal esaslı reaksiyonlar

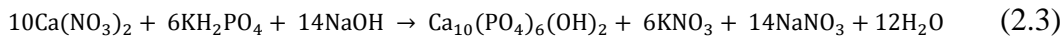
Her bir sentez yönteminin HAp kullanım alanına göre sağladığı avantajlar ve dezavantajlar bulunmaktadır .

Yaş kimyasal çöktürme yöntemleri, pH>7 koşulunda Ca²⁺ ve PO₄³⁻ iyonları içeren bileşiklerin sulu çözeltilerinin karıştırılarak HAp çökeltisi elde etme prensibine dayanmaktadır. En sık kullanılan Ca²⁺ içerikli bileşikler Ca(Cl)₂, Ca(NO₃)₂, Ca(OH)₂, CaCO₃, CaSO₄.2H₂O ve (CH₃COO)₂Ca olurken, fosfor kaynağı olarak H₃PO₄, NH₄H₂PO₄, Na₃PO₄ ve K₃PO₄ kullanıldığı görülmektedir. Çöktürme prosesinin ilk aşamasında, çökelti bileşimi HAp'tan farklılık gösterse de, uygun koşullarda bekletilmesi sonucunda Ca/P oranı artmakta ve HAp kristalleri oluşumu gerçekleşmektedir. Çöktürme prosesinin hızı başlangıçtaki tuz konsantrasyonu, karıştırma sırası ve hızı, çözelti pH'sı, reaksiyon sıcaklığı ve bekletme süresi gibi birçok faktörden etkilenmektedir [19].

Yapay HAp üretiminde yaygın olarak kullanılan başlıca iki yaş kimyasal çöktürme yöntemi bulunmaktadır. Jarcho ve Asada kalsiyum nitrat yöntemi üzerine çalışırken, Akao ve Osaka endüstride geniş ölçekli kullanım amacı ile kalsiyum hidroksit yöntemi üzerine odaklanmışlardır. Denklem 2.1'de görülen kalsiyum nitrat yöntemi reaksiyonu sırasında açığa çıkan yan ürünler HAp kafes yapısına katılmadığı için iyonların yarattığı safsızlık önlenebilmektedir. Ancak, artık amonyum nitrat ve amonyumun giderilmesi için çöktürmeden sonra etkili yıkamaya ihtiyaç duyulmaktadır. Denklem 2.2'de görülen kalsiyum hidroksit yöntemi reaksiyonunda ise, açığa çıkan tek yan ürün sudur [18].



Klyuchnikov denklem 2.3'te verilen reaksiyonu önermiştir. Çözeltinin bekletilmesi ile HAp kristalleri oluşumu gerçekleştikten sonra filtre ile ayrılan çökelti su ve etanol ile yıkanmakta, son olarak 40-50°C'de etüvde kurutulmaktadır [19].



Kibal'chits ve Komarov Ca(NO₃)₂ ve Ca₃PO₄ çözeltilerinin karıştırılması ile yüksek hızda HAp üretimini gerçekleştirmişlerdir. İlk aşamada 1.58 olarak elde edilen Ca:P atomik oranı, altı saatlik bir bekleme süresi sonunda 1.67'ye yükseltilmiştir [19].

Aizawa ve arkadaşları stokiyometrik oranlarda Ca(OH)₂, Ca₃(PO₄)₂, (NH₄)₃PO₄ ve H₃PO₄ karışımı ve sonrasında 10–30 kHz. ile ultrasonik muamele sonucunda yüksek kalitede HAp elde etmişlerdir. Kokubo, 5-100°C sıcaklık aralığında

karıştırma ile sulu $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, süspansiyonuna $\text{Ca}(\text{OH})_2$ eklenmesi sonucu HAp oluşumu gerçekleştirmiştir. Karışım pH'ı $\text{Ca}(\text{OH})_2$ eklenerek 10'a ayarlanmış ve Ca:P oranı 1,6'ya getirilmiştir. Daha sonra, Ca:P oranı 1,67'ye gelene kadar reaksiyon sürdürülmüş ve pH 7 -11 aralığında tutulmuştur.

Yaş kimyasal proseslerde, stokiyometrik oranlarda HAp üretimi için reaksiyon parametrelerinin kontrolü önem taşımaktadır. Örnek olarak, TCP ve diğer kalsiyum fosfatlı fazların oluşumuna engel olmak için pH kontrolü doğru yapılmalıdır. Kalsiyum kaynağı olarak kullanılan sıvı çözeltinin pH değeri yüksek tutularak ortofosfat iyonlarının varlığı sağlanmalıdır. Osaka, yüksek H_3PO_4 besleme debisinin (33 ml/dak) düşük besleme debisi ile kıyaslandığında (5 ml/dak) kalsiyumca eksik HAp oluşumuna sebep olduğu sonucuna varmıştır. Reaksiyon sıcaklığı parçacık boyutu üzerinde etkilidir. Sıcaklığın 25°C ve 37°C aralığında tutulması ile kemik benzeri parçacık boyutuna sahip HAp elde edilirken 90°C 'de diş benzeri boyutlarda HAp oluşmaktadır. Ortamda bulunan istenmeyen iyonlar stokiyometrik Ca/P oranının ve saflığın bozulmasında etkili olabilmektedirler. De- iyonize su ve yüksek saflıkta reaktifler kullanılarak iyon kirliliği önlenmelidir [18].

Hidrotermal proses ile HAp üretimi, yüksek sıcaklık ve basınçlarda yürütülen reaksiyonlar sonucu gerçekleşmekte ve maliyetli ekipman kullanımı gerektirmektedir. Hidrotermal proseste genel olarak, CaCO_3 ile $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ veya sulu amonyak çözeltisi içerisinde $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ile $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ bileşenleri kullanılmaktadır ve hidrotermal koşullar altında stokiyometrik oranlarda HAp üretimi gerçekleştirilmektedir.

Sol-gel yöntemi sırasında, reaktantların hidrolizi ve kondenzasyonu gerçekleşmektedir. Sol-gel prosesinde, reaksiyon sırasında moleküler düzeyde kontrolün sağlanabilmesi yüksek saflıkta, homojen ve eş oranlı kristal yapıda nanoparçacıkların elde edilmesine olanak sağlamaktadır [20]. Ancak, kimyasal çöktürme ve hidrotermal prosesler gibi geleneksel yöntemlere kıyasla yüksek maliyetli olması, reaksiyon süresince fosfatların hidrolizinin gerçekleşebilmesi gibi dezavantajları bulunmaktadır [21].

Kuru prosesler, stokiyometrik oranlarda HAp üretimini garantiye alıyor olsa da, yüksek sıcaklıkta ve daha uzun sürelerde çalışmayı gerektirmektedir. Ek olarak, bu tür proseslerden genellikle yeterli homojenlikte ürün elde edilememektedir.

2.3. Hidroksiapatit Kullanım Alanları

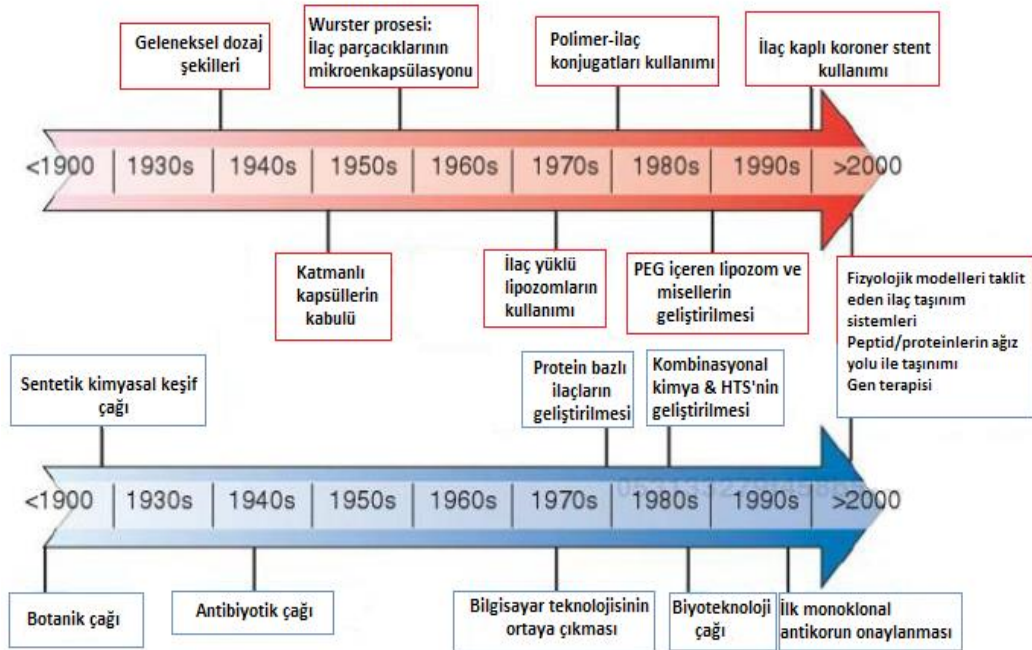
Hidroksiapatit biyouyumlu, toksik olmayan ve osteokondüktif yapısı nedeni ile biyomedikal uygulamalarda yaygın kullanım alanına sahiptir. Kemik ve diş dolgusu üretimi, doku iskelesi üretimi, biyoaktif kaplama, yumuşak doku yenilenmesi, ilaç/protein/gen yükleme ve taşıma sistemleri gibi uygulamalarda hidroksiapatit kullanımı söz konusudur. Ek olarak, floresans görüntüleme ve teşhis koyma malzemesi üretiminde, kromatografide protein, nükleik asit ve antikorların ayrıştırılması amacı ile adsorban olarak kullanımı da bulunmaktadır



3. İLAÇ SALIMI

3.1. Genel Bilgiler

1900'lü yılların başlarında, sentetik kimyasal üretiminde yaşanan gelişmeler ile beraber geleneksel bitkisel ilaçlar ile tedaviden, modern tedavi yöntemlerine doğru bir geçiş başlamıştır. 1940'lı yıllar süresince ilaç üzerine yapılan çalışmalar askeri ihtiyaçlar tarafından şekillenmiş, yaralı askerlerin tedavisi amacı ile antibiyotikler geliştirilmiş ve üretilmiştir. Üretilen ve kullanılan ilaç çeşitliliğinin artması ile beraber, günlük hayatta ilaç kullanımı da yaygınlaşmaya başlamıştır. 1940'lı yılların sonları ve 1950'li yılların başlarında, ilk kez ilaçların mikrokapsül şeklinde üretimi yapılmış ve bu yolla, sürdürülebilir ve kontrollü tedavi edici etkiye olanak sağlanmıştır. Örnek olarak, ilaç peletleri içeren ve salınımı uzun süreli kılmak amacı ile farklı kalınlıklarda kaplamalar ile kaplanmış mikrokapsüller üretilmiştir. Bu dönemde geliştirilmiş pek çok ilaç yükleme tekniği günümüzde de kullanılmaktadır.



Şekil 3.1: İlaç taşıma sistemleri tarihsel gelişimi [22].

1960'lı yıllarda kontrollü ve hedeflenmiş noktaya ilaç salımı üzerine yöntemler önerilmiş olsa da, 1970'li yıllara gelinene kadar bu yöntemle tam anlamı ile uygulanamamıştır. Bu on yıl süresince, biyoteknoloji ve moleküler biyoloji alanındaki çalışmalar pek çok sayıda hastalığın sebebinin ve protein bazlı ilaç üretiminin anlaşılmasına olanak sağlayarak ilaç üretim süreçlerinde önemli role sahip olmuşlardır. Benzer şekilde, teknolojik alandaki gelişmelerle beraber kullanılan bilgisayar programı ve yazılımlar ile yeni ilaçlar için bileşenlerin belirlenmesi süreci hızlanmıştır. Elde edilen yeni ilaç bileşenlerinin, maksimum etkinlik ve minimum yan etki ile taşınımının sağlanması amacı ile implant, kaplama, misel, lipozom ve polimer konjugatları gibi ilaç taşınım sistemleri önerilmiştir. Şekil 3.1'de ilaç taşınım sistemleri tarihsel gelişimi görülmektedir.

Hastada yaratılan istenmeyen etkilerin azaltılmasını zorlaştıran protein ve nükleik asitlerin ilaç bileşenlerinde kullanımının artması, günümüzde ilaç taşınım sistemleri çalışmalarına önem kazandırmaktadır. Bu nedenle, ilaç salım mekanizmasının anlaşılması ilacın etkin uygulanmasında kilit rol oynamaktadır [22].

3.1.1. İlaç salım kinetiği

İlaç salım mekanizması, ilaç taşıyıcı maddenin gözenek boyutu, şekil, bağlanabilirlik, ilaç/taşıyıcı etkileşimi, ilaç/polimer etkileşimi, polimer bozunma hızı gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu nedenle, kullanım öncesi salım mekanizmasının belirlenmesi önem taşımaktadır [18]. Salım kinetiğinin belirlenmesi amacı ile kullanılan matematik modeller, ilaç difüzyon katsayısı gibi önemli fiziksel parametrelerin belirlenmesine olanak sağlamakla birlikte, salım prosesinin optimizasyonunun yapılmasına katkıda bulunmaktadır [23].

Laboratuar ortamında ilaç salım mekanizmasının belirlenmesi, fosfat tampon çözeltisi (PBS) veya yapay vücut sıvısı (SBF) ortamında alınan ölçümler ile yapılabilmektedir. Salım süresince ortam sıvısı vücut sıcaklığında (37°C) tutulmaktadır. Vücut içi (*in vivo*) ilaç salımının belirlenmesi basitçe kan örneği alınarak yapılabilmektedir. PBS ve SBF gibi yapay çözeltiler laboratuar ortamında salım mekanizmasının belirlenmesine olanak sağlasa da, kan plazması ile çalışılması durumunda daha kesin sonuçlar elde edilmektedir [18].

Canlı içerisinde gerçekleşen ilaç salım profilini tahmin etmek amacı ile, laboratuvar ortamında elde edilen verilerin modellenmesi için kullanılan farklı yöntemler bulunmaktadır.

3.1.1.1. Modellemeye bağlı yöntemler

Çizelge 3.1’de ilaç salım profillerini tanımlayan modellerin özeti görülmektedir.

Çizelge 3.1: İlaç salım eğrilerini tanımlamak için kullanılan matematik modeller.

Sıfır Derece	$Q_t = Q_0 + K_0 t$
Birinci Derece	$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$
Hixson-Crowell	$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_t t$
Weibull	$\log \left[-\ln \left(1 - \left(\frac{Q_t}{Q_\infty} \right) \right) \right] = b \times \log t - \log a$
Higuchi	$Q_t = K_H \sqrt{t}$
Baker-Lonsdale	$\left(\frac{3}{2} \right) \left[1 - \left(-1 \left(\frac{Q_t}{Q_\infty} \right) \right)^{2/3} \right] - \left(\frac{Q_t}{Q_\infty} \right) = K_t$
Korsmeyer-Peppas	$\left(\frac{Q_t}{Q_\infty} \right) = K_k t^n$
Quadratic	$Q_t = 100(K_1 t^2 + K_2 t)$
Logistic	$Q_t = A / [1 + e^{-K(t-y)}]$
Gompertz	$Q_t = A e^{-e^{-K(t-y)}}$
Hopfenberg	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = 1 - [1 - k_0 t / C_0 a_0]^n$

Sıfır derece modeli: Belirli dozlarda ilacın çözünerek yavaşça salımı Denklem 3.1 ile ifade edilebilmektedir.

$$Q_0 - Q_t = K_0 t \quad (3.1)$$

Denklem 3.1’in düzenlenmesi ile Denklem 3.2 elde edilmektedir.

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (3.2)$$

Qt: t zamanında çözünen ilaç miktarı

Q0: Başlangıçta çözüntide bulunan ilaç miktarı (genellikle, $Q_0=0$)

K0: Sıfır derece salım katsayısı (konsantrasyon/zaman)

Elde edilen birikimli ilaç miktarlarının zamana karşı grafiğinin çizilmesi ile salım profili oluşturulmaktadır.

Birinci derece modeli: Birinci derece salım kinetiğine sahip ilaç salımı verilen Denklem 3.3 ile ifade edilebilmektedir.

$$\frac{dC}{dt} = -KC \quad (3.3)$$

$$\log C = \log C_0 - Kt / 2,303$$

C0: Başlangıç ilaç konsantrasyonu

K: Birinci derece hız sabiti (t-1)

t: Zaman

Birikimli ilaç konsantrasyonu yüzdelerinin logaritma değerlerinin zamana karşı grafiğinin çizilmesi ile $-K/2,303$ eğimine sahip bir doğru elde edilmektedir.

Higuchi modeli: Bir matris sisteminden gerçekleşen ilaç salımını tanımlamayı amaçlayan ilk matematik model, 1961 yılında Higuchi tarafından ileri sürülmüştür. Başlangıçta düzlemsel sistemler için tasarlanmış olsa da, ilerleyen zamanlarda farklı geometrik ve gözenekli sistemlere de uygulanmıştır. Model eşitliği Denklem 3.4'te verilmiştir.

$$f_t = Q = A \sqrt{D(2C - C_s)C_s t} \quad (3.4)$$

Q: t zamanında birim yüzey alanından salınan ilaç miktarı

A: İlaç taşıyıcı yüzey alanı

D: Matris içerisindeki ilaç difüzyon katsayısı

C_s: Matris içerisindeki ilaç çözünürlüğü

C: Matris içerisindeki başlangıç ilaç konsantrasyonu

Higuchi modeli; matris içerisindeki başlangıç ilaç konsantrasyonunun ilaç çözünürlüğünden çok yüksek olması, ilaç difüzyonunun tek boyutta gerçekleşmesi, ilaç parçacıklarının sistemin kalınlığından küçük olması, matris şişmesi ve bozunmasının ihmal edilebilir olması, ilaç yayılma katsayısının sabit olması, salım ortamı içerisine tam batırılmanın gerçekleşmiş olması hipotezlerine dayanmaktadır. Higuchi modeli genellikle Denklem 3.5'te verilen basitleştirilmiş hali ile kullanılmaktadır. K_H , Higuchi çözünme katsayısını ifade etmektedir. Elde edilen veriler, birikimli % ilaç salım miktarına karşı zamanın karekökü olarak grafik haline getirilmektedir.

$$f_t = Q = K_H \times t^{1/2} \quad (3.5)$$

Hixson-Crowell modeli: Hixson-Crowell (1931) parçacıkların yüzey alanının hacimlerinin küp kökü ile rantılı olduğunu belirleyerek, Denklem (3.6)'yı oluşturmuşlardır.

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = \kappa t \quad (3.6)$$

W₀: İlacın farmasötik dozaj formundaki miktarı

W_t: t zamanında farmasötik dozaj formunda kalan ilaç miktarı

κ: Yüzey-hacim ilişkisini oluşturan sabit

Denklem 3.6, parçacık veya tabletlerin yüzey alanı ve çapında değişim oluşan sistemlerden gerçekleşen salımı ifade etmektedir. Matriste geriye kalan % ilaç miktarının küp kökünün zamana karşı grafiğinin çizilmesi ile ilaç salım profili elde edilmektedir.

Korsmeyer-Peppas modeli: Korsmeyer ve arkadaşları (1983), polimerik sistemlerden gerçekleşen ilaç salımını ifade eden bir eşitlik oluşturmuşlardır. İlaç salım mekanizmasının belirlenmesi için, öncelikle verilerin %60'ı Korsmeyer-Peppas modeline uydurulmuştur.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n \quad (3.7)$$

M_t/M_∞ : t zamanında salınan ilaç fraksiyonu

K: Salım hız sabiti

n: Salım üsteli

Denklem 3.7'de yer alan n değeri, silindirik şekilli matrislerden gerçekleşen farklı salım mekanizmalarını tanımlamaktadır. Çizelge 3.2'de n değerine göre salım mekanizmaları görülmektedir.

Çizelge 3.2: Korsmeyer-Peppas denklemi n değerine göre salım mekanizmaları [23].

Salım üssü (n)	İlaç taşınma mekanizması	Zamanın fonksiyonu olarak hız
0,5	Fickian difüzyonu	t ⁻¹
0,45<n=0,89	Fickian olmayan taşınım	t ⁿ⁻¹
0,89	Case II taşınım	Sıfır derece salım
0,89'dan büyük	Super case II taşınım	t ⁿ⁻¹

İlaç salım profilini elde etmek için, salınan birikimli % ilaç miktarlarının zamana karşı grafiği çizilmektedir.

Baker-Lonsdale modeli: Bu model, Baker ve Lonsdale (1974) tarafından Higuchi modeli temel alınarak oluşturulmuştur. Denklem 3.8 ile ifade edilen Baker-Lonsdale modeli, küresel matrislerden ilaç salımını tanımlamaktadır. kt değeri, elde edilen doğrunun eğimine karşılık gelmektedir.

$$f_t = 3/2 \left[1 - \left(1 - \frac{M_t}{M_\infty} \right)^{2/3} \right] - \frac{M_t}{M_\infty} = kt \quad (3.8)$$

İlaç salım profilinin elde edilmesi için, $[d(Mt/M_{\infty})]/dt$ değerlerine karşılık $1/\sqrt{t}$ değerleri grafiği çizilmektedir.

Weibull modeli: Weibull modeli, matris tipi ilaç taşınım sistemlerinin salım profillerinin karşılaştırılması için uygun bir modeldir. Modele ait eşitlik Denklem 3.9'da görülmektedir.

$$M = M_0 \left[1 - e^{-\frac{(t-T)^b}{a}} \right] \quad (3.9)$$

M: t zamanında çözünen ilaç miktarı

M₀: Salınan toplam ilaç miktarı

T: Çözünme prosesi sonunda hesaplanan gecikme süresi

3.1.1.2. Modellemeden bağımsız yöntemler

Modellemeden bağımsız yaklaşımda, salım profillerini karşılaştırmak amacı ile fark (f_1) ve benzerlik faktörleri (f_2) kullanılmaktadır. Fark faktörü iki farklı zaman için eğriler arasındaki % farkı hesaplar ve Denklem 3.10' a göre iki eğri arasındaki bağıl hatayı verir.

$$f_1 = \left\{ \frac{[\sum_{t=1}^n (R_t - T_t)]}{[\sum_{t=1}^n R_t]} \right\} \times 100 \quad (3.10)$$

n: Zaman noktalarının sayısı

R_t: Referans grubun t zamanındaki çözünme değeri

T_t: Test edilen grubun t zamanındaki çözünme değeri

Benzerlik faktörü iki farklı zaman için eğriler arasındaki benzerliğin ölçüsüdür.

Modellemeden bağımsız yöntem, 3-4 veya daha fazla zaman noktasının bulunduğu salım profillerinin karşılaştırılması için uygundur.

3.2. Hidroksiapatit ile Yapılan İlaç Salımı Çalışmaları

Hidroksiapatit, kemik yenilenmesini sağlamak amacı ile doku aşılama ve implant malzemesi üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kalsiyum fosfat yapısındaki HAp üzerine bağlanabilme özelliğine sahip ilaçlar ile yapılan çalışmalarda, implantların kemik yenilenmesine ek olarak ilaç taşıma fonksiyonuna da sahip olabileceği, bu şekilde kontrollü ve hedeflenen bölgelere ilaç taşınımı

sağlanabileceği görülmüştür [18]. Çizelge 3.3'te HAp ile yapılan ilaç salımı çalışmaları görülmektedir.

Çizelge 3.3: Gözenekli hidroksiapatit esaslı ilaç taşıma sistemleri [18].

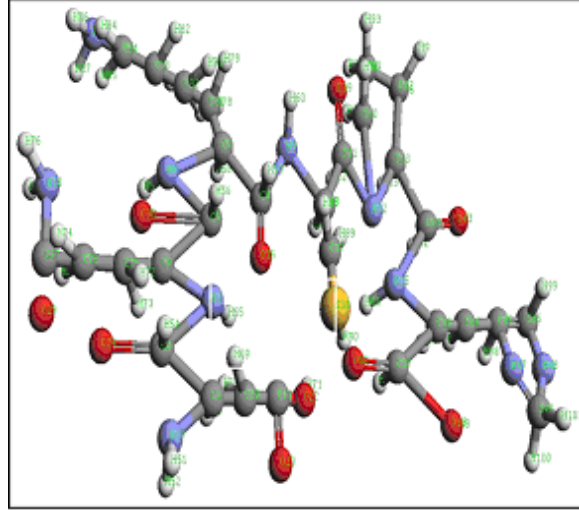
Hidroksiapatitin Fiziksel Biçimi	İlaçlar	İlaç Bağlama Yöntemi	Referanslar
Gözenekli seramik	Ibuprofen	Sıvıya daldırma	Oner et al. (2011)
	Cisplatin	Sıvıya daldırma	Netz et al. (2001)
	Tetracycline HCl	Karıştırma	Kim et al. (2004)
	Dexamethasone, Fluorescein isothiocyanate	Enkapsülasyon, Sıvıya daldırma	Son et al. (2011)
	Ibuprofen-lysine and hydrocortisone Na-succinate	Emdirme	Palazzo et al. (2005)
	Pentoxifylline	Doldurma	Szymura-Oleksiak et al. (2001)
	Methotrexate	Vakumlu emdirme	Itokazu et al. (1999)
	Lidocaine	Vakumlu emdirme	Loca et al. (2011a,b)
	Doxorubicin	Vakumlu emdirme	Pelss et al. (2011)
	Gentamicin	Vakumlu emdirme	Loca et al. (2011a,b)
Mikroparçacık, granül ve nanoparçacık	Testosterone enanthate, cyclosporin A, human serum albumin	Sıvıya daldırma, adsorpsiyon	Mizushima et al. (2006)
	Vancomycin	Sıvıya daldırma	Lin et al. (2013)
	Carvedilol	Batırma/Çözücü uçurma	Zhao et al. (2011a,b,c,d)
	5-Fluorouracil	Püskürtmeli kurutucu	Santos et al. (2009)
	Doxycycline HCl	Sıvıya daldırma, adsorpsiyon	Wang et al. (2010)
	Ibuprofen	Sıvıya daldırma, adsorpsiyon	Baradari et al. (2012)
	Bovine serum albumin	Sıvıya daldırma, adsorpsiyon	Wu et al. (2012)
	Dexamethasone	Vakumlu emdirme	Hong et al. (2011)
	Human serum albumin	Vakumlu emdirme	Paul and Sharma (1999)
	Ibuprofen	Sıvıya daldırma	Yang et al. (2008)
	Cytochrome, bovine serum albumin	Adsorpsiyon	Ishihara et al. (2010)
	Bovine serum albumin and lysozyme HCl	Adsorpsiyon	Tomoda et al. (2010)
Vancomycin	Enkapsülasyon	Ye et al. (2010)	
Sıkıştırılmış tabletler	Riboflavine sodium phosphate, metoprolol tartrate	Sıvıya daldırma, adsorpsiyon	Cosijns et al. (2007)

3.3. Jelatin

3.3.1. Jelatin genel özellikleri

Doğal bir polimer olan jelatin, vücutta en fazla bulunan protein olan kollajenin kısmi hidrolizi ile elde edilmektedir. Kollajen çoğunlukla deri, kemikler, kıkırdak ve beyaz bağ dokusunda bulunmakla birlikte hidroliz sonucu asidik veya bazik prosesler ile A tipi ve B tipi jelatin oluşturabilmektedir [24].

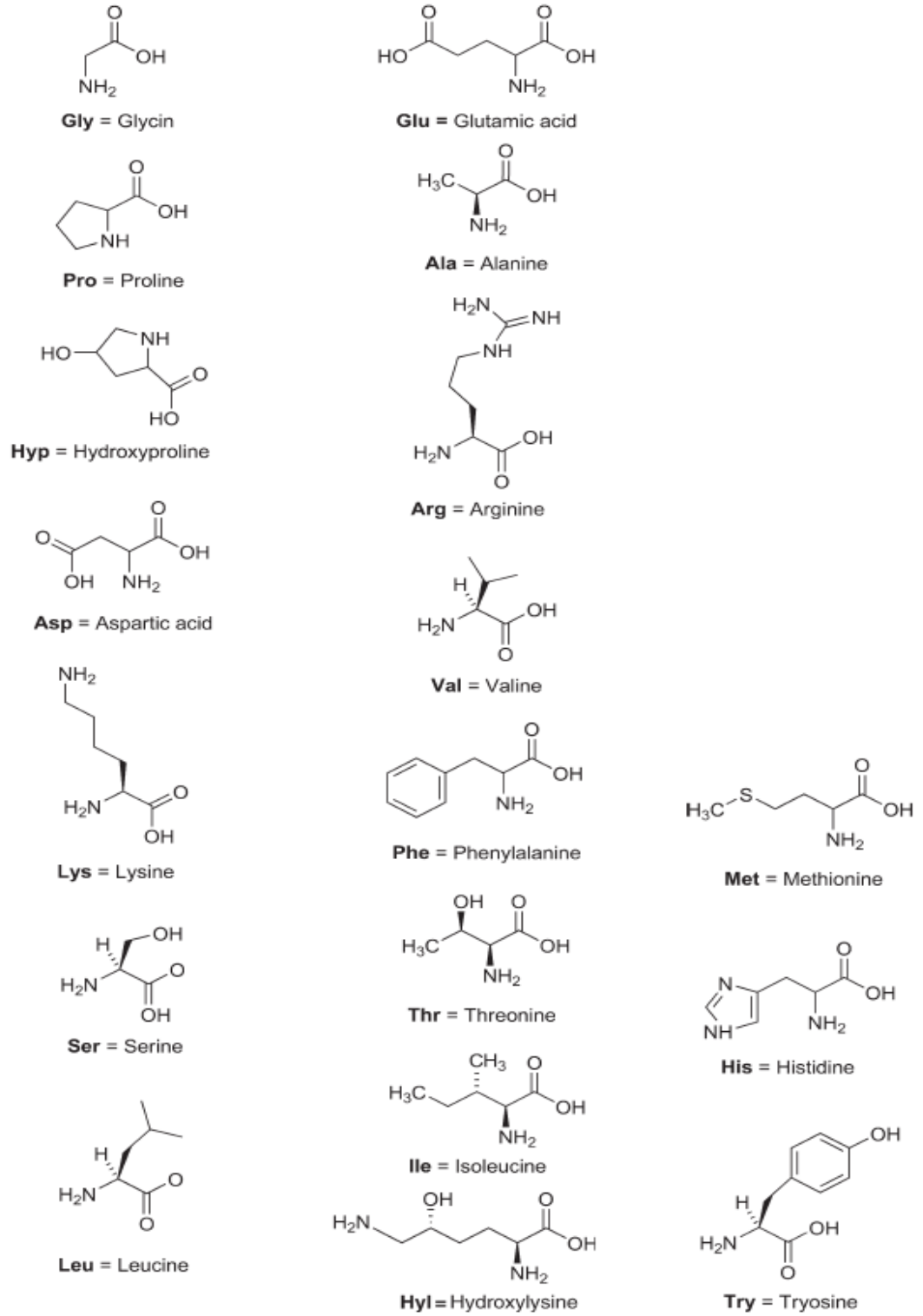
Jelatinin başlıca bileşenleri, değişen molekül ağırlıklarına ve kollajen ile aynı amino asit bileşimine sahip polipeptid molekülleridir. Kollajen, 18 farklı amino asit içeren ve her birinin molekül ağırlığı ~95,000 olan sıralı uzun zincirlerden oluşmaktadır. Sarmal bölgedeki zincirlerden iki tanesi özdeşir ve α_1 olarak adlandırılmıştır. Biraz farklılık gösteren üçüncü zincirine ise α_2 adı verilmiştir. Elektrostatik kuvvetler tarafından bir arada tutulan bu zincirler, kimyasal bağlar tarafından da birleştirilebilirler. Jelatin oluşum süreci sırasında, zincirleri bir arada tutan bağlar ve peptid bağları kısmi olarak hidrolize uğrar. Farklı mertebedeki jelatinler, ~20,000 ve 250,000 arasında değişen molekül ağırlıklarına sahiptirler. Jelatin yapısı Şekil 3.2'de görülmektedir [24].



Şekil 3.2: Jelatin yapısı [25].

Jelatin yapısında en yüksek oranda bulunan amino asitler glisin (%24), prolin (%17), alanin (%14), hidroksiprolin (%10) ve glutamik asittir (%7). Geri kalan amino asitler ise çoktan aza doğru aspartik asit, lizin, serin, arginin, lösin, valin, fenilalanin,

treonin, izolesin, hidrokisilisin, histidin, metiyonin ve tiroindir. Şekil 3.3'te amino asit yapıları görülmektedir [24].



Şekil 3.3: Jelatinde bulunan amino asit yapıları [24].

3.3.2. Jelatin ile yapılan ilaç salımı çalışmaları

Wu ve arkadaşları, kemoterapik bir ilaç olan doksurubisin ve jelatin eşlenikleri üretimi yaparak, pH değişiminin salım profili üzerine etkisini incelemişlerdir. Elde edilen doksurubisin-jelatin eşlenikleri, pH 4,8, 6,5 ve 7,4 değerlerinde 37°C'de 48 saat süre ile PBS ve NaCl içerisinde bekletilmişlerdir. pH 4.8 değerinde ilaç salımı %48, 6,5 değerinde %22 ve 7,4 değerinde %10 oranında gerçekleşmiş, pH değeri arttıkça ilaç salım oranının azaldığı görülmüştür. Her üç koşul için de, sıfır zamanında yüklü ilacın %4-6'sı arasında değişen miktarlarda ani salım meydana gelmiştir. Kanser hücrelerinin asidik pH değerlerine sahip olması nedeni ile, asidik ortamda salımın daha fazla olmasının ilacın hedeflenen kanser hücrelerine ulaştığında daha çok salınmasına imkan sağlayabileceği sonucuna varılmıştır. pH değeri 7,4 civarında olan sağlıklı hücrelerde salımın az olması ile toksik yan etkiler azaltılabilmektedir. pH 6,5 değerinde 7,4'e kıyasla daha fazla gerçekleşen salım ile, kanser hücreleri dışında tümör çevresinde de salımın gerçekleşebileceği yorumu yapılmıştır [26].

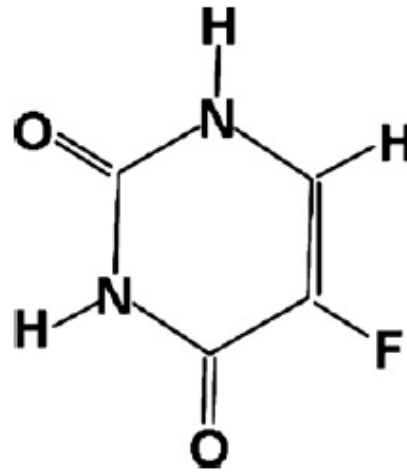
Khan ve arkadaşları, sitarabin yüklü jelatin nanoparçacıkları üretimi yaparak ilaç salım profilini incelemişlerdir. Çapraz bağlayıcı ajan olarak genipin kullanılırken, ilaç yükleme miktarı, jelatin miktarı, genipin miktarı, pH değeri, jelatin türü ve yapay fizyolojik sıvı türü değişiminin sitarabin salımı üzerine etkisi gözlenmiştir. %48,5 ve %88,4 oranları arasında değişen miktarlarda ilaç yüklenen jelatin nanoparçacıklarının PBS ortamında salımına bakıldığında, ilaç yükleme miktarı arttıkça salımın arttığı görülmüştür. 1,0 ve 7,0 g arasında değişen jelatin miktarlarında, jelatin miktarı arttıkça salınan ilaç miktarının azaldığı görülmüştür. Bu durum, her jelatin miktarında aynı oranda çapraz bağlama ajanı kullanıldığından, küçük jelatin miktarlarının daha etkili çaprazlanarak daha gözenekli bir yapıya sahip olacağı, bu nedenle yapıya giren su molekül sayısının daha fazla olarak su alma kapasitesine bağlı ilaç salımının daha fazla olacağı şeklinde açıklanmıştır. %0,1 ve %0,6 arasında değişen genipin miktarları ile çalışıldığında, %0,3 oranına kadar ilaç salımının artan genipin ile beraber arttığı, %0,3 üzerindeki oranlarda ise artan genipin miktarı ile azaldığı görülmüştür. %0,3 genipin oranına kadar olan artış, artan bağ sayısı sebebi ile hidrofilik özelliği de artan genipinin daha fazla su molekülünü yapı içerisine çekerek, difüzyon ile salınan sitarabin miktarını arttırması şeklinde yorumlanmıştır.

%0,3 üzerindeki genipin oranlarında azalan salım ise, nanoparçacıkların boyutunun küçülerek su alma kapasitesinin düşmesine bağlanmıştır. Bir başka açıklama olarak, çapraz bağlama ajanı miktarının arttırılmasının çapraz bağlar arasındaki molekül ağırlığının azalmasına sebep olabileceği, dolayısı ile nüfuz eden su miktarının ve salımın da azalabileceği belirtilmiştir. pH 1,8, 7,4 ve 8,5 değerlerinde salım incelendiğinde, pH 7,4 değerinde ilaç salım miktarının en düşük olduğu görülmüştür. Jelatinin izoelektrik noktasına yakın olan pH 7,4 değerinde, jelatin makromoleküllerinin nötr olması ve jelatin zincirleri arasında itici kuvvet yaratmaması ilaç salımını da azaltmaktadır. Ancak, jelatin zincirlerinin pH 1,8 değerinde pozitif yüklü ve pH 8,5 değerinde negatif yüklü olması, elektrostatik itme kuvveti nedeni ile daha fazla ilaç salımına sebep olmaktadır [27].

3.4. 5-FU(Fluorouracil)

3.4.1. 5-FU genel özellikleri

5-FU ($C_4H_3FN_2O_2$) kimyasal formülüne sahip kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir pirimidin analogudur. DNA yapısında bulunan timin nükleotidini inhibe ederek DNA sentezine, fosfat enzimini inhibe ederek RNA sentezine engel olur [1]. 1957 yılında klinik alanda kullanılmaya başlanan 5-FU, tümör gelişimine karşı oldukça etkili bir ajandır. Günümüzde kolon, rektum, göğüs, yumurtalık, pankreas, mide, beyin ve cilt kanseri gibi pek çok kanser türünün tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [2]. Şekil 3.4'te 5-FU kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 3.4: 5-FU kimyasal yapısı [28].

5-FU'nun vücut içerisindeki yarılanma süresi 10-20 dakika civarındadır. Kanser tedavisinde kullanılan pek çok ilaç gibi 5-FU da sindirim, sinir sistemi, deri ve kalbi etkileyen birçok yan etkiye sebep olabilmektedir. Kalın bağırsak kanseri tedavisinde 100-1000 ng/ml dozu uygulandığında kanser hücrelerinin etkisiz hale geldiği görülmüştür. Tedavi edilen kanser türüne göre, daha yüksek dozlara çıkılması gerekebilmektedir. Ancak, yapılan çalışmalarda 50 µg/ml'den yüksek 5-FU dozlarının insan vücudunda toksik etkiye sebep olduğu görülmüştür [9].

3.4.2. 5-FU ile yapılan ilaç salımı çalışmaları

Etkin kanser tedavisi için kullanılan 5-FU dozlarının insan vücudunda toksik etkiye sebep olması ve hızlı yarılanma süresi, kontrollü salım çalışmalarının önem kazanmasına neden olmuştur. İlaç taşıyıcı bir malzeme kullanılarak, ilacın uygulanması sonrasında ani 5-FU salımının engellenmesi ve salımın istenen bölgede gerçekleşmesini sağlamak, buna bağlı olarak da yan etkileri azaltmak mümkündür. Literatürde 5-FU yüklü organik ve inorganik malzemeler ile birlikte çeşitli kompozitlerin kullanıldığı ilaç salımı çalışmaları bulunmaktadır.

Santos, C. ve Rovath, C.F. püskürtmeli kurutucu kullanarak 5-FU yüklü HAp nano parçacıkları elde etmiş ve PBS ortamında ilaç salım profilini incelemişlerdir. Elde edilen parçacıkların XRD karakterizasyonu sonucunda HAp ve 5-FU kristallerinin varlığı doğrulanmış, ancak kurutucuda yüksek sıcaklıklara (180°C) çıkılması durumunda HAp yapısında değişim ve 5-FU'da bozunma gerçekleştiği gözlemlenmiştir. İlaç salımına bakıldığında, salınan ilaç miktarı yüklenen ilaç miktarına çok yakın değerde elde edilmiş, bu nedenle HAp'ın 5-FU için uygun bir taşıyıcı olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak, salım profilinde ani bir pik gözlenerek tüm ilacın 5 dakika içerisinde salınması, yalnızca HAp'ın taşıyıcı ortam olarak 5-FU'nun kontrollü salımı için yeterli olmadığını göstermektedir [28].

Peng, Z. , Li, Z., ve Shen, Y. su/yağ emülsiyon yöntemi ile 5-FU yüklü jelatin mikrokürecikleri elde ederek ilaç salım profilini incelemişlerdir. Gluteraldehit ile çaprazlama yapılarak çözünür bir polimer olan jelatine sabit bir yapı kazandırılması ve 5-FU salımının yavaşlatılması amaçlanmıştır. İlaç salım profiline bakıldığında, gluteraldehit konsantrasyonu artırıldıkça ilk 30 dakika içerisinde ilk aşamada gerçekleşen ani salım miktarının azaldığı gözlemlenmiştir. Gluteraldehit miktarından bağımsız olarak ilk bir saat içerisinde ilaç miktarının %40-70 oranında salımı

gerçekleşmiştir ve her koşulda iki fazlı salınım profili ortaya çıkmıştır. Gluteraldehit miktarında olduğu gibi çapraz bağlama süresinin arttırılması da ilk salım miktarını azaltmıştır. Çapraz bağlama ajanı miktarı ve süresi değiştirilerek 5-FU salım hızının kontrol edilebildiği görülmektedir [4].

5-FU yüklü HAp/PLGA , GEL/kitosan gibi kompozit malzemelerin ilaç salımı çalışmaları bulunmaktadır. Lin Y., ve Li, Y. HAp/PLGA 5-FU yüklü kompozit mikrokürecik üretimi yaparak ilaç yükleme verimi ve ilaç salım profilini incelemişlerdir. Değişen HAp/PLGA oranları dikkate alındığında, artan HAp oranı ile ilk ani salımın azaldığı gözlemlenmiştir. HAp'ın ani salımı sınırlayıcı özellik göstermesi, doz aşımının önüne geçilmesine fayda sağlayacağından HAp/PLGA kompozitinin 5-FU taşıyıcı ortam olarak avantajlı olacağı sonucuna varılmıştır. İlaç salım profili, tercih edilen şekilde düşük bir ani salımı takiben sıfır derece salım ile iki fazlı olarak görülmüştür. Yalnızca 5-FU yüklü PLGA parçacıkları ile yapılan çalışmalarda görülen ve ani ilaç salımına bağlı yan etkilere sebep olan üç fazlı salım profili, HAp eklenmesi durumunda istenen iki fazlı profile yaklaşmıştır. HAp/PLGA oranı artışı ilk ani ilaç salımını azaltırken, ilaç salım hızını arttırmıştır. Bu durum, polimer yapı içerisinde yer alan HAp'ın poroziteyi arttırarak ve polar yapısına bağlı olarak mikrokürecikler içerisine su girişini kolaylaştırarak polimer bozunumunu hızlandırması, buna bağlı olarak ilaç salımının hızlanması şeklinde yorumlanmıştır [9].

Zhou, Z., ve Liu, L., 5-FU yüklü GEL/kitosan mikrokürecikleri elde ederek ve çapraz bağlama ajanı olarak gluteraldehit kullanarak ilaç yükleme profilini incelemişlerdir. Peng, Z. , Li, Z., ve Shen, Y. çalışmasında olduğu gibi, çapraz bağlama ajanı miktarı arttırıldığında, ilk ani salım oranının azaldığı görülmüştür. Bununla birlikte, çapraz bağlama ajanı arttırılmasına beraber ilaç salım hızında da artış olmuştur [4]. Farklı 5-FU dozları ile çalışıldığında, artan 5-FU yükleme miktarı ile beraber ilk ani salımın ve salım hızının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, mikrokürecikler içerisinde daha fazla boş alan olmasının 5-FU moleküllerinin taşınımını yavaşlatıyor olduğu şeklinde açıklanmıştır [10].

3.5. Hidroksiapatit-Polimer Kompozitleri

Son yıllarda, seramik/polimer malzemelerin ilaç taşıyıcı olarak kullanımına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Çeşitli bozunma hızı ve mekanizmasına sahip biyobozunur polimerlerin seramik malzemelere eklenmesi ile, farklı ilaç salım profilleri elde edilebilmektedir [18]. Polimer ortamdan ilaç salımında elde edilen profili belirleyici başlıca etkenler,

- İlacın salındığı ortam,
- İlaç salım sisteminden gerçekleşen difüzyon,
- İlaç salım sisteminin hidrofilik veya hidrofobik karakteridir.

Bu etkenlere ek olarak, ilacın ilaç salım sistemi içerisindeki dağılımı, ilacın çözünürlüğü ve parçacık boyutu da önem taşımaktadır [29]. İlaç salım sistemlerinde kullanılan başlıca polimerler polilaktik/poliglolik asit, proteinler (kollajen, jelatin, fibrin, vb.), karbonhidratlar (kitin, kitosan, nişasta, alginat, vb.) ve polikarbonat, polipropilen fumarat (PPF), polietilen glikol (PEG), naylon, polipropilen gibi diğer polimerlerdir. Polimerlerin çapraz bağlanması amacı ile genipin, kalsiyum klorür, glüteraldehit vb. çapraz bağlama ajanları kullanılırken, istenilen pH değerini ve polimerin çözünmesini sağlamak amacı ile farklı çözücüler kullanılabilir. Kullanılan tüm bu malzemeler, geliştirilen ilaç salım sisteminin biyouyumluluğunu etkilemektedir. Bu nedenle ilaç salım sisteminin ilaçlı ve ilaçsız şekilde toksik olmaması, üretim aşamasında kullanılan toksik özellikteki çapraz bağlama ajanları ve çözeltilerin giderilmesi önem taşımaktadır.

Seramik (HAp)/polimer yapıda ilaç salım sistemlerinin üretimi başlıca üç şekilde gerçekleştirilebilmektedir,

- İlacın HAp yapısına eklenmesinden sonra polimer ile kaplama yapılması,
- İlacın polimer içerisine katılmasından sonra kaplama yapılması,
- İlacın polimer ile kaplanan HAp malzeme tarafından absorbe edilmesi.

HAp/polimer ilaç salım sistemi hazırlanması için bir başka yöntem ise gözenekli HAp mikroküreleri elde edilmesidir. HAp mikrokürelerinin polimer ile kaplanması emülsiyon-çözücü uçurma yöntemi, batırma-kurutma yöntemi veya püskürtmeli kurutucu kullanımı ile yapılabilmektedir. Polimer kaplı gözenekli HAp

mikrokürelerinin kullanımı ile kontrollü ilaç salımı sağlanarak ilk ani salım önenebilmektedir. Ancak, kullanılan polimerin biyoyumlu yapıda olmasına dikkat edilmesi gerekmektedir [18].

3.5.1. Hidroksiapatit-Jelatin kompozitleri

HAp-GEL kompozitleri, doğal kemik doku ile çok benzer olan bileşimleri, biyoyumlu ve osteokondüktif olmaları nedeni ile son yıllarda kemik doku onarımı üzerine yapılan çalışmalarda tercih edilen malzemeler haline gelmişlerdir [30]. Doğal kemik morfolojisine yakın özellikte biyomalzemeler elde etmek amacı ile hidroksiapatit ve kollajen kompozitleri kemik implantı üretiminde kullanılmaktadır. Ancak, kollajen kullanımı üretim maliyetini arttırmakta ve kollajenin kırılğan yapısı üretim aşamasında güçlükler sebebe olmaktadır [31].

Kollajen, yüksek çekme dayanımına sahip, kemik dokusunun temel bileşenlerinden bir tanesi olan lifli yapıda bir proteindir. Tropokollajen olarak adlandırılan kollajen molekülleri üç alfa zincirinden oluşan sarmal yapıya sahiptirler. Bu yapısal özellik, kollajenin suda çözünmeyen karakterde olmasına, dolayısı ile kompozit üretimi aşamasında muamele edilmesinin zor olmasına neden olmaktadır [31].

Jelatin, kollajenin tek yönlü hidrolizi sonucunda elde edilmektedir. Kollajenin üçlü sarmal yapısının bölünmesi sonucu α_1 ve α_2 zincirleri ile, onların oligomer ve parçalanmış pepitlerinin oluşturduğu heterojen bir karışım olan jelatin ortaya çıkmaktadır. Gerçekleşen reaksiyon tek yönlü olmasına rağmen, jelatin sulu çözeltiler içerisinde bulunduğu sarmalların kümelenmesi ile kollajen benzeri üçlü sarmal yapılar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle hidrofilik ve hidrofobik özellik gösterebilen jelatin, sıklıkla emülgatör olarak da kullanılmaktadır. Amfifil yapısı ile beraber ekonomik ve biyoyumlu olması nedeni ile jelatin, kemik doku benzeri kompozit biyomalzeme üretiminde kollajene göre avantajlı olabilmektedir [31].

HAp-GEL kompozitleri üretiminde hidroksiapatit ve jelatin bileşenleri oranı, üretim yöntemi, sıcaklık vb. etkenler elde edilen kompozitin yapısal özellikleri üzerinde belirleyici olmaktadır. Bera ve arkadaşları, farklı oranlarda kalsiyumca eksik HAp-GEL nanokompozitleri elde ederek biyoyumluluklarını incelemişlerdir. Yapılan XRD analizi sonucunda, kristal yapı oluşumunun yeterince iyi olmadığı görülmüştür. Bu sonuç, üretim sırasında gerçekleşen reaksiyonun yüksek sıcaklıklarda

yürütülmemesi ile açıklanmıştır. Bununla birlikte, artan jelatin konsantrasyonlarında HAp kristalleri oluşumunun sınırlandığı görülmüştür. Yüksek jelatin konsantrasyonunun HAp kristallerini daha yoğun bir biçimde sarmalayarak, kristallerin büyümesine engel olduğu sonucuna varılmıştır [31].

Son yıllarda kemik doku onarımı çalışmalarına ek olarak, HAp-GEL kompozitlerinin kullanıldığı ilaç salım sistemleri çalışmaları da yapılmıştır. Kullanılan üretim yöntemine göre düzensiz granül, sünger, bulamaç, zar veya mikroküre yapısında kompozitler elde edilmiştir. Bahsedilen yapılar arasında, uzun zaman dilimlerinde kontrollü ilaç salımı yapılmasına elverişli olması ve ilaç yükleme verimi yüksek olması nedeni ile, mikrokürelerin ilaç salım sistemlerinde kullanıma daha uygun olduğu görülmüştür. Teng ve arkadaşları, yağ içinde su emülsiyonu yöntemi ile HAp-GEL mikrokürecikleri üretimi gerçekleştirmişlerdir. Jelatinin HAp kristalleri gelişimi için kolloid bir ortam olarak kullanılması sonucu, jelatin matriksi içerisinde homojen olarak dağılmış, dar bir parçacık boyut dağılımına sahip (ortalama 7.5 µm), gözenekli yapıda HAp mikrokürecikleri elde edilmiştir. Elde edilen küçüklükteki mikroküreciklerin eşit oranlı ilaç dağılımını sağlayacağı, gözeneklerin varlığının ise ilaç yükleme kapasitesini arttıracığı ve kontrollü ilaç salınımında kullanım için uygun olduğu yorumu yapılmıştır [30].

3.5.2. Hidroksiapatit-Jelatin ile yapılan ilaç salımı çalışmaları

HAP-GEL kompozit malzeme içerikli implant ve nanoparçacıkların ilaç (ibuprofen, tetrasiklin, vb.) yükleme verimi ve salımının incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. Xiao ve arkadaşları, HAp-GEL kaplı ve ibuprofen yüklü titanyum implant üretimi yaparak SBF ortamında ilaç salım profilini incelemişlerdir. İlaç yüklemesi daldırma yöntemi ile yapılırken, farklı ilaç yükleme miktarları ve daldırma süreleri ile çalışılmıştır. Yapılan deneyler sonucunda, başlangıç ilaç konsantrasyonu ve daldırma süresi arttırıldıkça ilaç yükleme verimliliğinin arttığı görülmüştür. Kaplamadan salınan ibuprofen çalışılan her koşulda yaklaşık olarak sıfır derece salım profilini izlemiş ve salımı 30 günde tamamlanmıştır. Kaplamanın ilaç içerisine daldırma süresi arttırıldıkça, ilaç salım hızının arttığı görülmüştür. Bu durum, kaplama SBF içerisinde bekletildikçe jelatin katmanının daha fazla bozularak incelenmesi, buna bağlı olarak ilacın daha hızlı salınmasının gerçekleşmesi şeklinde açıklanmıştır. Kaplamalar biyoaktivitelerinin incelenmesi amacı ile, SBF içerisinde 21 gün süre ile

bekletilmişlerdir. Yalnızca jelatin ve yalnızca titanyum implantlar ile yapılmış çalışmalarda apatit oluşumu gözlenmemişken, HAp-GEL kompozit kaplamasında 14 gün sonunda tüm yüzeyin apatit katmanı ile kaplandığı görülmüştür. Buna bağlı olarak, HAp-GEL kompozit kaplamanın biyoaktif özellik gösterdiği sonucuna varılmıştır [14].

Hae-Won ve arkadaşları, çöktürme yöntemi ile gözenekli HAp-GEL nanokompozitleri üretimi yaparak ilaç salım profilini incelemişlerdir. HAp miktarı, çapraz bağlama ajanı miktarı ve başlangıçta eklenen ilaç miktarı değişimine bağlı olarak tetrasiklin yüklü HAp-GEL nanoparçacıkların ilaç yükleme verimi ve salım profili değişimi gözlenmiştir. İlaç yükleme veriminin HAp miktarı arttıkça azalırken, çapraz bağlama ajanı ve başlangıçta eklenen ilaç konsantrasyonu arttıkça arttığı görülmüştür. Saf jelatin ile kıyaslandığında tüm HAp-GEL kompozitlerinin daha yavaş salındığı görülmüştür. Bu durum HAp-GEL kompozitlerinin daha az su tutmaları ve daha yavaş bozunmaları ile açıklanmıştır. Salım ilk aşamada difüzyon ile, ikinci olarak madde kaybı ile gerçekleşirken, HAp-GEL içerikli nanokompozitlerde madde kaybı hem jelatinin bozunması hem de HAp'ın iyonik salımı ile meydana gelmektedir. Çaprazlama ajanı miktarı arttırıldıkça ilaç salım hızı azalmıştır. HAp miktarı arttıkça ilaç salım hızı ve ilk ani salım miktarı azalmıştır. Tüm nanokompozitler başlangıçta yüklenen ilaç miktarı ile doğru orantılı salım gerçekleştirmişlerdir. Bu nedenle, HAp-GEL nanokompozitlerinin kontrollü ilaç salımı uygulamalarında kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır [16].

Chen-Dou ve arkadaşları yarı-sentetik tetrasiklin türevi bir antibiyotik olan minosiklin yüklü HAp-GEL kompozitleri üretimi yaparak ilaç salım profilini incelemişlerdir. PBS ortamında pH 7,4 ve 37°C sıcaklıkta iki hafta süre ile bekletilen numunelerde, ilk ani salımı takiben sabit yavaş salım şeklinde gerçekleşen tipik iki aşamalı salım mekanizması gözlenmiştir. 1. gün ilk ani salım gerçekleşirken, 5. günde ikinci bir ani salım görülmüştür. 1. ve 5. günde salınan minosiklin miktarında belirgin bir fark gözlenmemekle birlikte, 5. ve 7. günde salınan miktarların farklı olduğu görülmüştür. 7. ve 14. günler arasında ise, kompozitlerden sabit ve yavaş minosiklin salımı gerçekleşmiştir. 1. günde gerçekleşen ilk ani salım, kompozit parçacıklarının yüzeyinde yer alan veya HAp kristalleri ile güçlü bir bağ oluşturmayan minosiklin moleküllerinin salımı ile ilişkilendirilmiştir. 5. günde

gerçekleşen ikinci ani salım, büyük kompozit parçacıklarının daha küçük parçacıklara ayrılmasının ani bir ilaç salımına yol açması ile açıklanmıştır. 5. günden sonra kompozitlere gevşek bir şekilde tutunmuş ilaç moleküllerinin salımı tamamlanmış, sabit ve yavaş salım başlamıştır. Sabit ve yavaş salımın, gelatin ve hidroksiapatit bozunmasının başlamasına bağlı olarak gerçekleşmiş olabileceği yorumu yapılmıştır [32].

Sivakumar ve arkadaşları gentamisin yüklü koralin hidroksiapatit-gelatin mikroküreleri üretimi yaparak ilaç salım profilini incelemişlerdir. Gentamisin enkapsülasyonu absorpsiyon yöntemi ile gerçekleştirilmiş, salım profili PBS ortamında pH 7,4 ve 37°C koşullarında elde edilmiştir. İlaç yükleme yüzdesi %43,94 olarak hesaplanmış, ilk üç gün içerisinde yüklü ilacın %93,8'inin salındığı gözlenmiştir. Salım profili uzun süreli sıfır dereceye yakın salım mekanizması şeklinde elde edilmiştir. Salım mekanizmasının, ortam sıvısının mikrokürecik gözenekleri içerisine absorpsiyonu, ilacın sıvı içerisinde çözünmesi ve sıvının gözeneklerden ilaç ile beraber salınması şeklinde gerçekleştiği yorumu yapılmıştır [33].

4. PÜSKÜRTMELİ KURUTUCU

Püskürtmeli kurutucu; akışkan yataklı kurutucu, flaş kurutucu, püskürtmeli öğütme, püskürtmeli toplama, püskürtmeli reaksiyon, püskürtmeli soğutma ve püskürtmeli absorpsiyon ile birlikte asılı parçacık proseslerine dahildir. Bu prosesler sırasında, kurutma işlemi parçacıklar havada asılı iken gerçekleşir.

Püskürtmeli kurutma prosesi sırasında, kurutma işlemi ile beraber parçacık oluşumu da gerçekleşmektedir. Elde edilen toz ürün özellikleri kontrol edilebilmekte ve sürekli bir proses süresince sabit tutulabilmektedir. Farklı püskürtmeli kurutucu tasarımları ile ince veya iri taneli toz ürün, yığın veya granüller elde etmek mümkündür.

Püskürtmeli kurutma işlemi sırasında kurutucuya beslenen sıvı, sıcak kurutma ortamı etkisi ile kuru parçacık biçimine dönüştürülmektedir. Kurutucuya beslenen malzeme çözelti, süspansiyon, emülsiyon veya pasta şeklinde olabilir [36].

Püskürtmeli kurutma işlemi dört basamakta gerçekleşmektedir:

- 1) Beslemenin atomizasyonu
- 2) Püskürtülen beslemenin hava ile teması (karışma ve akma)
- 3) Püskürtülen beslemenin kurumması (nem/uçucu buharlaşması)
- 4) Kuru ürünün havadan ayrılması

İlk aşamada, besleme atomizere pompalanmaktadır. Kurutma havası, atomizerin bulunduğu tavan hava dağıtıcı yolu ile kurutma bölmesine girmektedir. Besleme fanı ile girişi sağlanan hava buhar ile ısıtılmaktadır. Kurutma bölmesinde kuruyan püskürtülmüş beslemenin çoğunluğu bölme tabanına düşerek pnömatik taşıma sistemine girmektedir. Kuru ürün hava ile beraber sürüklenerek ayırma işlemi için siklona geçmektedir. Siklondan elde edilen kuru toz ürün siklon tabanında toplanmaktadır. Atık hava aspiratör yolu ile atmosfere geçirilmektedir [34].

Püskürtmeli kurutucu kullanımı avantajları aşağıdaki gibidir:

- 1) Kurutma koşulları sabit tutulduğu sürece, kurutma prosesi süresinden bağımsız olarak aynı özellik ve kalitede toz ürün elde edilebilmektedir.
- 2) Püskürtmeli kurutma prosesi sürekli ve kolay bir procestir, tam otomatik kontrollü hale uyarlanabilir ve cevap verme süresi kısadır.
- 3) Çok çeşitli kurutucu tasarımları mevcuttur. Uygun püskürtmeli kurutucu seçimi ile istenen özelliklere sahip ürünler elde etmek mümkündür.
- 4) Püskürtmeli kurutma işlemi hem sıcaklığa duyarlı hem de sıcaklığa dayanıklı malzemelere uygulanabilir.
- 5) Çözelti, bulamaç, emülsiyon, pasta veya eriyik biçiminde olan malzemeler pompalanabilir durumda iseler, korozif veya aşındırıcı olması fark etmeksizin muamele edilebilirler.
- 6) Püskürtmeli kurutucu tasarımları ihtiyaca göre esneklik gösterebilmektedir. Farklı püskürtmeli kurutucu tasarımları ile:
 - Organik çözücü temelli malzemelerin buharlaştırılması patlama ve yangın riski olmadan gerçekleştirilebilmektedir.
 - Hava ile karışığında patlayıcı olabilen toz ürünler oluşturan sıvıların buharlaştırılması,
 - Buharlaşma posesi sonucu kötü koku oluşturan sıvıların buharlaştırılması,
 - Toksik malzemelerin buharlaştırılması,
 - Steril/hijyenik koşullarda kurutmayı gerektiren malzemelerin kurutulması mümkündür [34]

5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1. Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada, HAP-GEL içeren 5-FU ilacı yüklenmiş biyokompozit malzeme üretimi amaçlanmıştır. HAp-GEL kompozit malzemeleri SBF ortamında yaş çöktürme yöntemi ile elde edilmiştir. Üretim aşamasında çapraz bağlama ajanı olarak GA kullanılmıştır.

Çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL numuneleri 5-FU ile birlikte çözelti halinde püskürtmeli kurutucuya beslenmiş ve ilaç yüklü HAp-GEL kompozitleri elde edilmiştir.

HAp-GEL kompozitleri, malzeme içerisindeki jelatin miktarının ilaç yükleme verimi ve ilaç salım profili üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile HAp/GEL oranı ağırlıkça 1:1, 1:2 ve 1:4 olmak üzere üç farklı oranda hazırlanmıştır. GA oranının ilaç yükleme verimi ve ilaç salım profili üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile hacimce %2 ve %5 olmak üzere iki farklı oranda GA-deiyonize su çözeltisi ile çalışılmıştır.

Elde edilen ilaç yüklü HAp-GEL kompozitlerinin, fosfat tampon çözeltisi (PBS) ortamında ilaç yükleme verimi ve salım profili incelenmiştir.

5.1.1. Kullanılan kimyasallar & araç ve gereçler

HAp-GEL kompozitleri üretimi aşamasında kalsiyum hidroksit ($\text{Ca}(\text{OH})_2$, Merck, %96), orto fosforik asit (H_3PO_4 , Merck, %85), sodyum hidroksit (NaOH , Riedel-de Haen, %97), HCl, jelatin, gluteraldehit, sodyum bisülfid kullanılmıştır. SBF üretiminde kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 5.1'de görülmektedir.

Kullanılan araç ve gereçler;

Püskürtmeli kurutucu: YAMATO Mini-Spray Dryer ADL 310

pH metre: InoLab WTW Series pH720

Analitik terazi: Shimadzu Libror AEG-220

Peristaltik pompa: Cole Parmer Masterflex

Mekanik karıştırıcı: Janke&Kunkel Ika-Werk RW20

UV : JENWAY 6305 Spectrophotometer

Etüv: Memmert

Su banyosu: Microtest Çalkalamalı Su Banyosu/MCS Serisi

Santrifüj: Hettich EBA 20

Çizelge 5.1: 1L SBF için kimyasal miktarları .

	Kimyasal	Miktar
1	NaCl	7,996 g.
2	NaHCO ₃	0,350 g.
3	KCl	0,224 g.
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,228 g.
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305 g.
6	1M HCl	40 ml
7	CaCl ₂	0,278 g.
8	Na ₂ SO ₄	0,071 g.
9	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6,057 g.
10	1M HCl	pH 7,4'e ayarlanır.

5.1.2. Kullanılan çözeltiler

SBF çözeltisi hazırlama aşamasında kullanılacak olan beher, magnet, vs. ekipmanlar sterilizasyon amacı ile bir gece süresince seyreltik HCl çözeltisinde bekletilmiştir.

Hazırlama aşamasında cam beher, mezur vs. kullanılmamasına dikkat edilmiştir.

750 ml deiyonize su 1000 ml'lik beher içerisine alınmış, manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiş ve 37°C'de karıştırmaya bırakılmıştır. Çizelge 5.1'de görülen kimyasallar, verilen sıra ile tartılarak beher içerisine eklenmiştir. Her bir kimyasal eklendikten sonra çözünmesi için bir süre beklenmiştir. Çözelti sıcaklığı 37°C'ye ulaştıktan sonra Çizelge 5.1'de 9 numaralı olarak görülen kimyasal eklenmiştir. Yaklaşık olarak 7,5 olan pH değeri, 1M HCl yardımı ile 7,4 değerine ayarlanmıştır. HCl çözeltisinin yavaşça ve küçük miktarlarda eklenmesine dikkat edilmiştir. Çözeltinin bulunduğu beherin ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak bir gece süre ile beklemeye bırakılmıştır. Çökelti oluşması halinde, SBF çözeltisi tekrar yapılmıştır. Çökelti bulunmaması durumunda 1000 ml'lik polipropilen balonjojeye aktararak deiyonize su ile tamamlanmıştır.

Gluteraldehit çözeltisi hazırlanırken, %2 (v/v) GA çözeltisi için 2 ml GA 100 ml'lik balonjoje ve 1ml GA 50 ml'lik balonjojeye alınmış ve distile su ile tamamlanmıştır. %5 (v/v) GA çözeltisi için 5 ml GA 100 ml'lik balonjoje ve 2,5 ml GA 50 ml'lik balonjojeye alınarak tamamlanmıştır.

%3(v/v) sodyum bisüfit çözeltisi hazırlanırken 3ml Sodyum bisüfit 100 ml'lik balonjoje içerisine alınmış ve distile su ile tamamlanmıştır.

1M HCl çözeltisi pH ayarı için kullanılmak üzere hazırlanmıştır. %37'lik 83,4 ml HCl çözeltisi alınarak balonjoje içerisinde 1000 ml'ye deiyonize su ile tamamlanmıştır.

1M NaOH çözeltisi pH ayarı için kullanılmak üzere hazırlanmıştır. 40 g NaOH tartılarak 1000 ml'lik balonjoje içerisine alınmış ve deiyonize su ile tamamlanmıştır.

pH 7,4 koşulunda 0,1 M PBS hazırlamak için öncelikle 0,5 L 1M K₂HPO₄ çözeltisi ve 0,5 L 1 M KH₂PO₄ çözeltisi hazırlanmıştır. 1M K₂HPO₄ hazırlamak için 87,09 g K₂HPO₄ , 1 M KH₂PO₄ hazırlamak için 68,045 g KH₂PO₄ tartılmış ve her ikisi de 500 ml'lik balonjojelere alınarak deiyonize su ile tamamlanmıştır. 0,1 M PBS hazırlamak için 0,5 L 1M K₂HPO₄ çözeltisinden 80,2 ml, 0,5 L 1 M KH₂PO₄ çözeltisinden 19,8 ml alınmış ve 1000 ml'lik balonjoje içerisinde deiyonize su ile tamamlanmıştır.

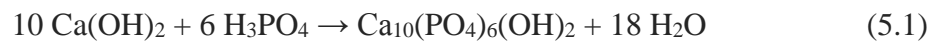
5.2. Deneysel Yöntem

5.2.1. Deney düzeneği

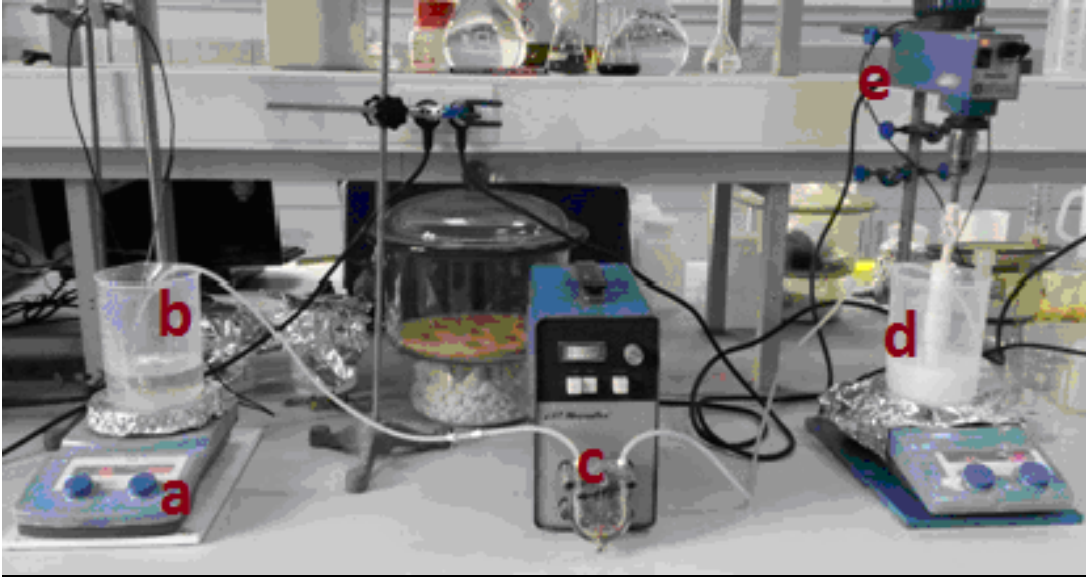
Şekil 5.1'de HAp-GEL kompozitlerinin çöktürme yöntemi ile hazırlanması için kullanılan deney düzeneği görülmektedir. Elde edilen HAp-GEL kompozitlerine, Şekil 5.2'de görülen püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklemesi yapılmıştır.

5.2.2. HAp-GEL kompozit malzemenin SBF ortamında üretilmesi

HAp-GEL kompozit malzemesi eldesi için, Ca(OH)₂ ve H₃PO₄ arasında gerçekleşen Denklem 5.1 sonucu çözelti içerisinde HAp çökeltisi elde edilmiştir.



Bir beher içerisine SBF ve Ca(OH)₂ eklenerek mekanik karıştırıcı yardımıyla Ca(OH)₂ 'nin çözünmesi sağlanmıştır. Bir başka beher içerisine H₃PO₄, SBF ve GEL



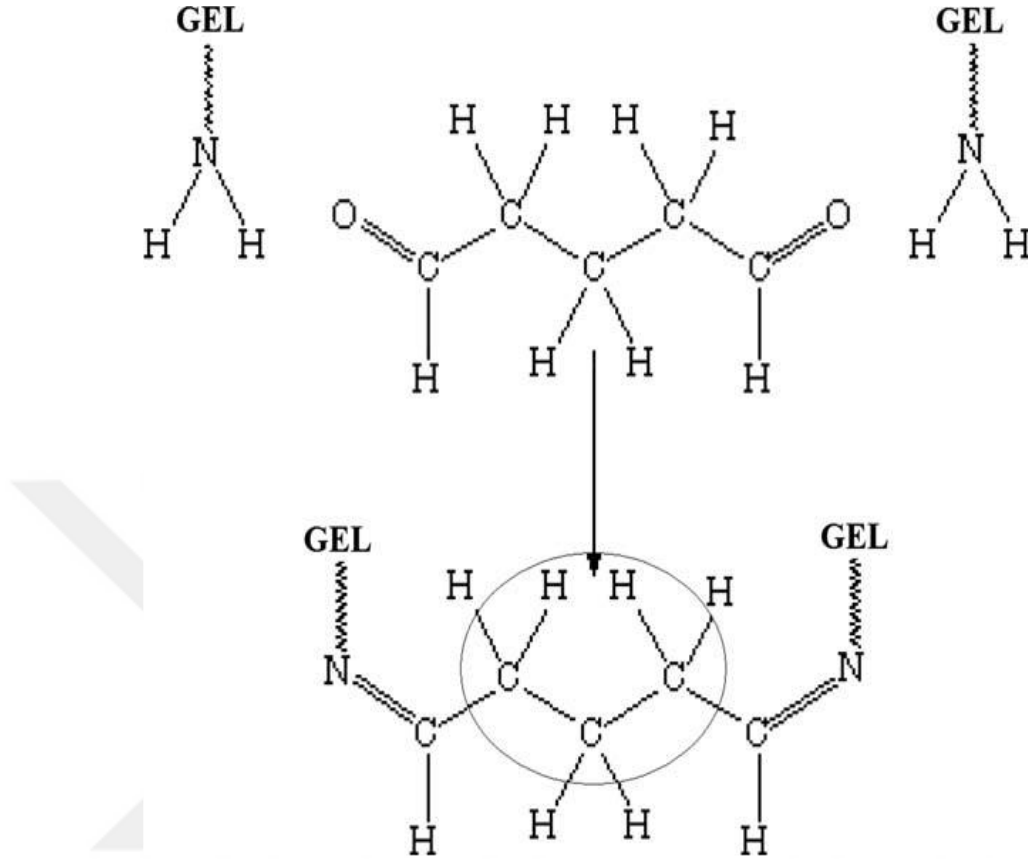
Şekil 5.1: Yaş çöktürme yöntemi deney düzeneği (a)Isıtıcı karıştırıcı, b) H₃PO₄-SBF-GEL karışımı, c) Peristaltik pompa, d)Ca(OH)₂-SBF karışımı, e)Mekanik karıştırıcı).



Şekil 5.2: Püskürtmeli kurutucu.

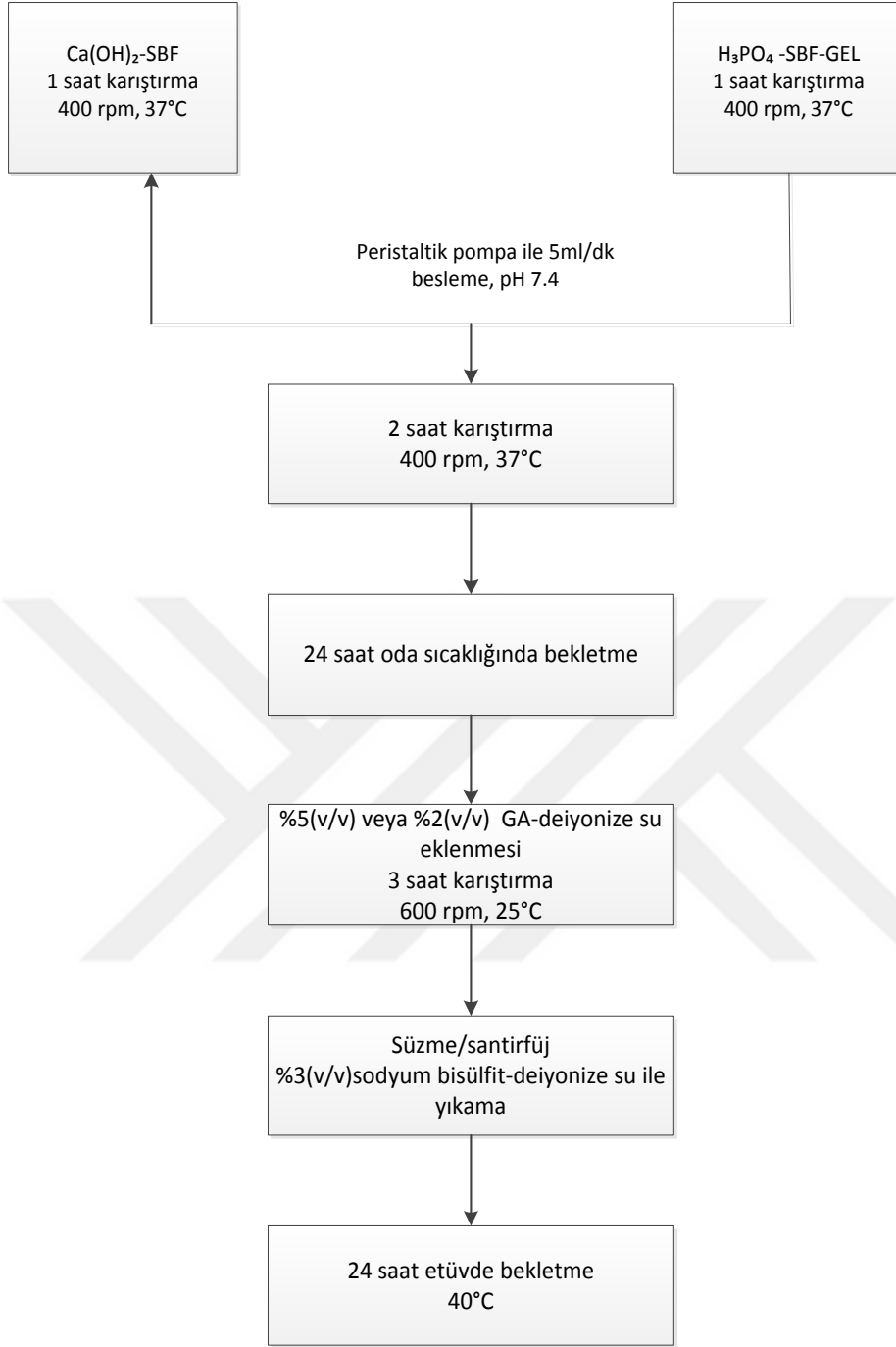
eklenmiştir. İki beher 1 saat süre ile 400 rpm ve 37°C'de karıştırılmıştır. 1 saat sonunda peristaltik pompa ile H₃PO₄-SBF-GEL karışımını Ca(OH)₂-SBF karışımı içerisine 5 ml/dak. debi ile beslenmiştir. Çözeltinin pH değeri 1M HCl veya 1M NaOH çözeltisi yardımı ile 7,4'e ayarlanmıştır. 400 rpm ve 37°C'de 2 saat süre ile

karıştırılmadan sonra çözeltinin bulunduğu beherin ağzı kapatılmış ve 24 saat süre ile beklemeye bırakılmıştır.



Şekil 5.3 : Jelatin ve glutaraldehit arasında çapraz bağ oluşumu [35].

24 saat sonunda çapraz bağlama ajanı olarak kullanılan GA, GA-deiyonize su çözeltisi şeklinde HAp-GEL-SBF çözeltisine eklenmiştir. 600 rpm ve oda sıcaklığında 3 saat süre ile karıştırılmıştır. Yüksek GEL konsantrasyonuna ve 24 saat bekleme süresince düşük sıcaklıklara bağlı olarak jelleşme gerçekleşmiş ise, sıcaklık da kademeli olarak 40°C'yi geçmeyecek şekilde arttırılmıştır. 3 saat sonunda çözelti süzülüş, süzme sonunda reaksiyona girmeyen GA'nın giderilmesi amacı ile sırası ile %3'lük sodyum bisülfid çözeltisi ve distile su ile yıkama yapılmıştır. Jelatin ve glutaraldehit arasında çapraz bağ oluşumu Şekil 5.3'te görülmektedir. Süzgeç kağıdı üzerindeki çökeltiler cam kaplara alınarak 40°C'de 24 saat süre ile kurumak üzere etüve konulmuştur. 1:2 ve 1:4 oranları ile çalışıldığında artan GEL konsantrasyonu süzme işlemi süresini uzatmaktadır. Bu nedenle santirfüj ile çökeltilerin ayrılması sağlanmıştır. HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması Şekil 5.4'te görülmektedir [36].



Şekil 5.4: HAp-GEL kompozit malzeme üretim şeması.

Kullanılan yönteme ek olarak, kompozitlerden bir tanesi için gluteraldehitin 24 saat bekleme süresinden önce eklendiği bir yöntem daha denenmiştir. Çapraz bağlama ajanı, H₃PO₄-SBF-GEL karışımı Ca(OH)₂-SBF içerisine eklendikten hemen sonra çözeltiye katılmıştır. Elde edilen kompozitler TGA ve FTIR analizleri ile karşılaştırılmıştır.

5.2.3. İlaç yüklü HAp-GEL kompozitleri eldesi

5.2.3.1. Absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenmesi

5 mg ilaç içeren 10 ml PBS çözeltileri hazırlanarak deney tüpleri içerisine alınmıştır. Her bir HAp-GEL numunesinden 100 mg tartılarak deney tüplerine eklenmiş ve bir gün süre ile PBS içerisinde bekletilmiştir. Bir gün sonrasında santrifüjlenerek alınan numuneler iki gün süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

5.2.3.2. Püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklenmesi

Çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL kompozitlerinin püskürtmeli kurutucuya beslenmeden önce havanda öğütülerek ve elekten geçirilerek (250 µm) küçük boyutlu hale gelmesi sağlanmıştır. 75 mg 5-FU tartılarak bir beher içerisinde 300 ml deiyonize suya ilave edilmiştir ve 800 rpm'de karıştırmaya bırakılmıştır. Püskürtmeli kurutucuya besleme sırasında tıkanma oluşmasına engel olmak amacı ile 25°C'ye ısıtılmıştır. HAp-GEL numunesinden 3 g tartılarak beher içerisine eklenmiş ve karıştırılmaya devam edilmiştir. Püskürtmeli kurutucuda kurutma havası giriş sıcaklığı 80°C, atomizer basıncı 0,1 MPa ve besleme debisi 5 ml/dak olarak ayarlandıktan sonra besleme yapılmıştır. Tüm çözelti beslendikten sonra, püskürtmeli kurutucudan elde edilen ilaç yüklü HAp-GEL numunesi cam bir şişe içerisine alınmıştır.

5.2.4. İlaç yükleme verimi ölçümü

5.2.4.1. Kalibrasyon eğrisi hazırlanması

10 mg ilaç tartılarak bir beher içerisinde 100 ml distile suya ilave edilmiştir. Bir süre karıştırıldıktan sonra, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 ve 5,0 ml çözelti 25 ml'lik balonjojeler içerisine alınarak distile su ile tamamlanmıştır. Elde edilen seyreltilmiş çözeltilerin absorbans değerleri UV spektrometre ile 266 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Her numune için üç ölçüm yapılmış ve ortalamaları alınmıştır. Aynı işlem PBS ve HCl içerisinde de tekrarlanmış ve üç çözücü için kalibrasyon eğrileri elde edilmiştir.

5.2.4.2. HAp-GEL numunelerinin ilaç yükleme verimi ölçümü

50 mg ilaç yüklü HAp-GEL numunesi tartılarak bir beher içerisine alınan 50 ml suda, 37°C ve 250 rpm'de iki saat süre ile karıştırılmıştır. Bu süre sonunda, çözeltilerden 1 ml alınarak bir balonjoje içerisinde 25 ml'ye seyreltilmiştir. Seyreltilen çözeltinin absorbans değeri UV spektrometrede okunmuş, kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak numune içerisindeki ilaç konsantrasyonu belirlenmiştir. Aynı işlem su yerine çözücü olarak PBS ve HCl kullanılarak tekrarlanmıştır. Su ve PBS kullanılması durumunda çözelti 37°C'ye ısıtılırken, HCl kullanılması durumunda herhangi bir ısıtma işlemi yapılmamıştır. İlaç yükleme verimleri Denklem 5.1'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{İlaç yükleme verimi} = \frac{\text{Teorik ilaç miktarı}}{\text{Kompozitlerdeki ilaç miktarı}} \times 100 \quad (5.1)$$

5.2.5. PBS ortamında ilaç salımı deneyleri

12 mg ilaç yüklü HAp-GEL numunesi tartılarak 20 ml PBS içeren tüplere eklenmiştir. Tüpler, su banyosunda 37°C ve 200 rpm'de karıştırmaya bırakılmıştır. 5, 10, 15, 30, 45. dakikalarda ve 1, 2, 3, 5. saatlerde 10 ml alınarak santrifüjlenmiş, süzöntü kısmından 5 ml alınarak 25 ml'ye seyreltilmiştir. Tüplere 10 ml taze PBS çözeltisi eklenmiştir. Seyreltilmiş çözeltilerin absorbans değerleri UV spektrometre ile 266 nm dalga boyunda okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri ile salınan kümülatif ilaç miktarları hesaplanmış, sıfır derece, birinci derece, Higuchi ve Korsmeyer Peppas kinetik modellerine göre salım profilleri oluşturulmuştur.

6. SONUÇLAR VE YORUMLAR

6.1. HAp-GEL Kompozit Deney Sonuçları

Yaş çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL kompozitlerine ait teorik ve deneysel miktarlar Çizelge 6.1’de verilmiştir. Aynı miktarda gluteraldehit ile çaprazlanan kompozitlerde jelatin oranı arttıkça elde edilen madde miktarı veriminin azaldığı görülmektedir. Bu durum, jelatinin bir kısmının süzme işlemi sırasında SBF içerisinde çözülmüş halde uzaklaştırılması ile açıklanmaktadır. Farklı gluteraldehit miktarı ile çaprazlanan kompozitlere bakıldığında ise, gluteraldehitin artması ile verimin de arttığı görülmektedir. Bunun sebebi, gluteraldehitin jelatin polimerik bağlarını güçlendirerek jelatine daha sabit bir yapı kazandırmasıdır. Bu şekilde, süzüntü ile uzaklaşan jelatin miktarı azalmıştır [37].

Çizelge 6.1’de 2. yöntem ile hazırlanan HAp-GEL %5 GA 1:1 kompozitinin ağırlıkça veriminin diğer şekilde hazırlanan kompozite göre daha az olduğu görülmektedir. Bu nedenle çalışmalara ilk yöntem ile devam edilmiştir.

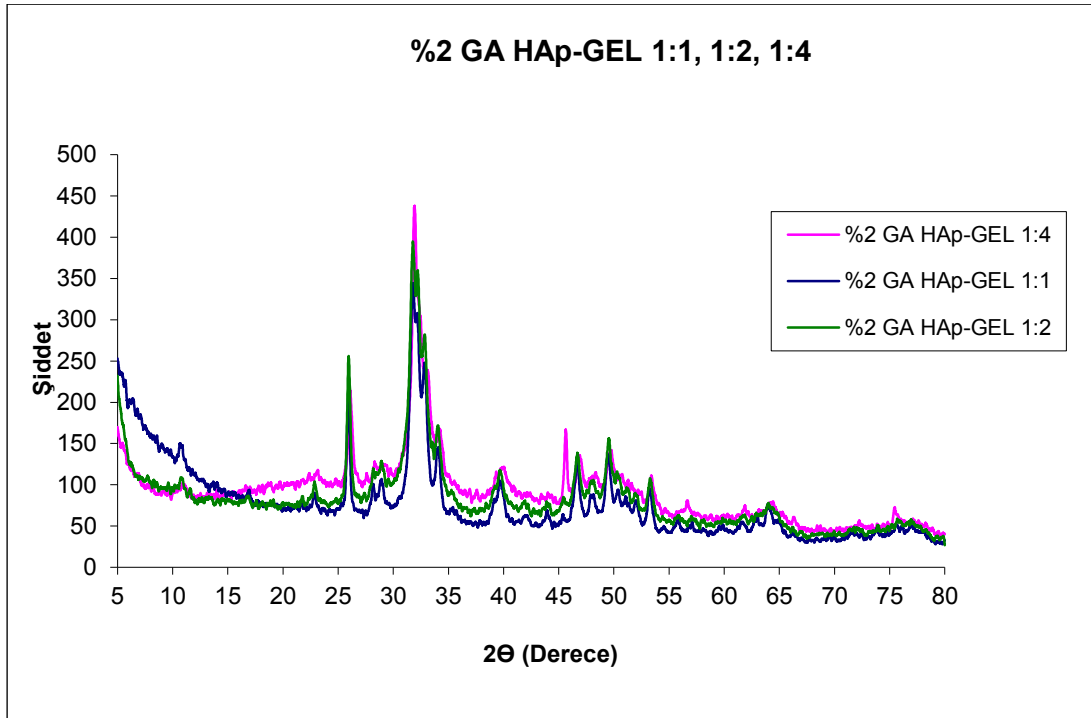
Çizelge 6.1: Teorik ve deneysel HAp-GEL kompozit miktarları.

HAp/GEL	Teorik HAp-GEL (g)	Deneysel HAp-GEL (g)	Verim (%)	GA (%)
1:1	9,6	4,8	50,0	2,0
1:2	14,4	5,6	39,0	2,0
1:4	24,0	7,0	29,0	2,0
1:1	9,6	6,9	71,8	5,0
1:1 (2.yöntem)	9,6	5,5	57,6	5,0

6.1.1. Yaş çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL kompozitlerin incelenmesi

6.1.1.1. XRD analizi

Şekil 6.1’de yaş çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL kompozitleri XRD analizi sonuçları görülmektedir. Analizler, Bruker D8 Advance X-Işınları Difraktometresi ile yapılmıştır.

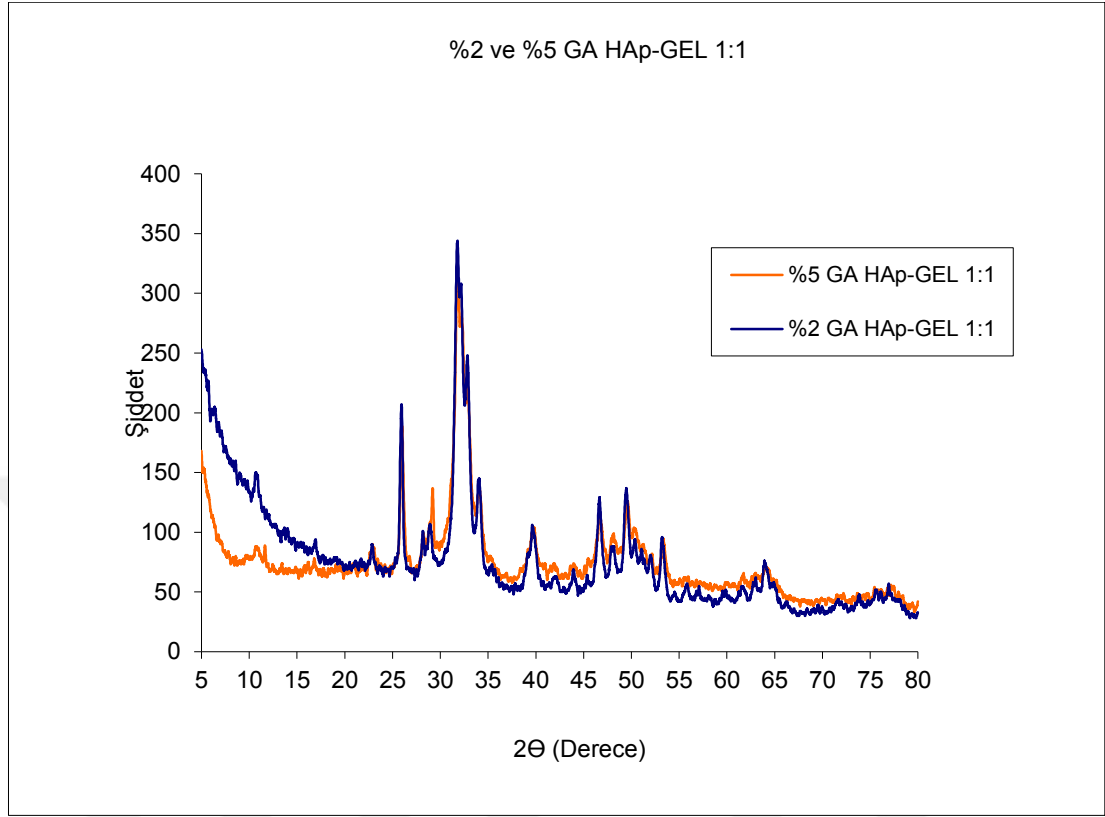


Şekil 6.1: %2 GA HAp-GEL kompozitleri karşılaştırmalı XRD analizleri.

Yapılan analizler sonucunda, elde edilen tüm HAp-GEL kompozitlerinde HAp faz varlığı doğrulanmıştır. HAp haricinde herhangi bir kalsiyum fosfat fazı belirlenmemiştir.

Chang ve arkadaşları, çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL kompozitleri ile yaptıkları çalışmalarında kompozitlerdeki jelatin oranı arttıkça XRD deseni piklerinin zayıfladığını gözlemlemişlerdir. Bu nedenle, jelatin miktarı artışının HAp kristalleri büyümesini baskıladığı sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde Teng ve arkadaşları, Sivakumar ve Panduranga Rao, Dou ve arkadaşları, Chang ve arkadaşları ve Bera ve arkadaşları HAp-GEL kompozitleri ile yaptıkları çalışmalarında artan jelatin miktarı ile birlikte zayıflayan pikler gözlemlemiş, buna bağlı olarak jelatin miktarı arttıkça HAp kristal boyutunun küçüldüğünü raporlamışlardır. Ancak bu çalışmada, jelatin miktarı artışı ile beraber XRD deseni piklerinde belirgin bir farklılık gözlemlenmemiştir. Şekil 6.1’de görüldüğü gibi, farklı jelatin içeriğine sahip HAp-GEL kompozitlerine ait difraksiyon pikleri birbirine yakın şiddetlere sahiptir. Bu nedenle, bu çalışmada kullanılan yaş çöktürme yönteminde jelatin miktarının kristalleşme boyutu üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Şekil

6.2’de farklı gluteraldehit miktarlarına sahip HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı difraksiyon pikleri görülmektedir.

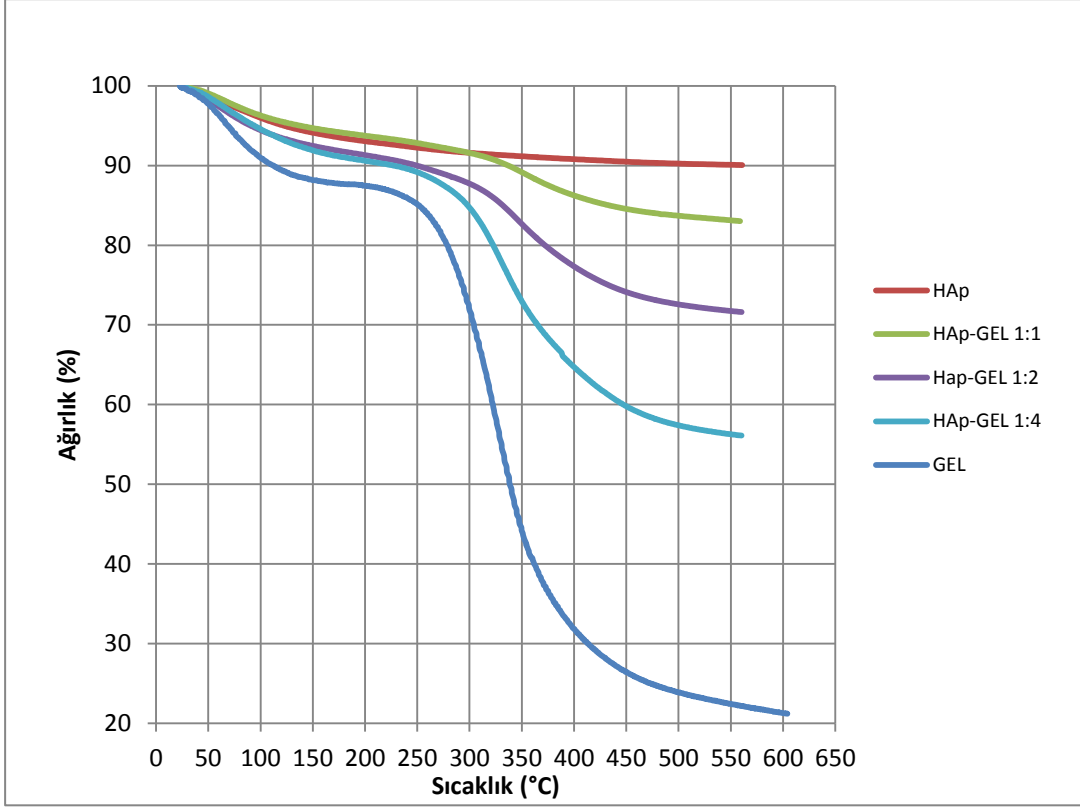


Şekil 6.2: %2 ve %5 GA HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı XRD analizi.

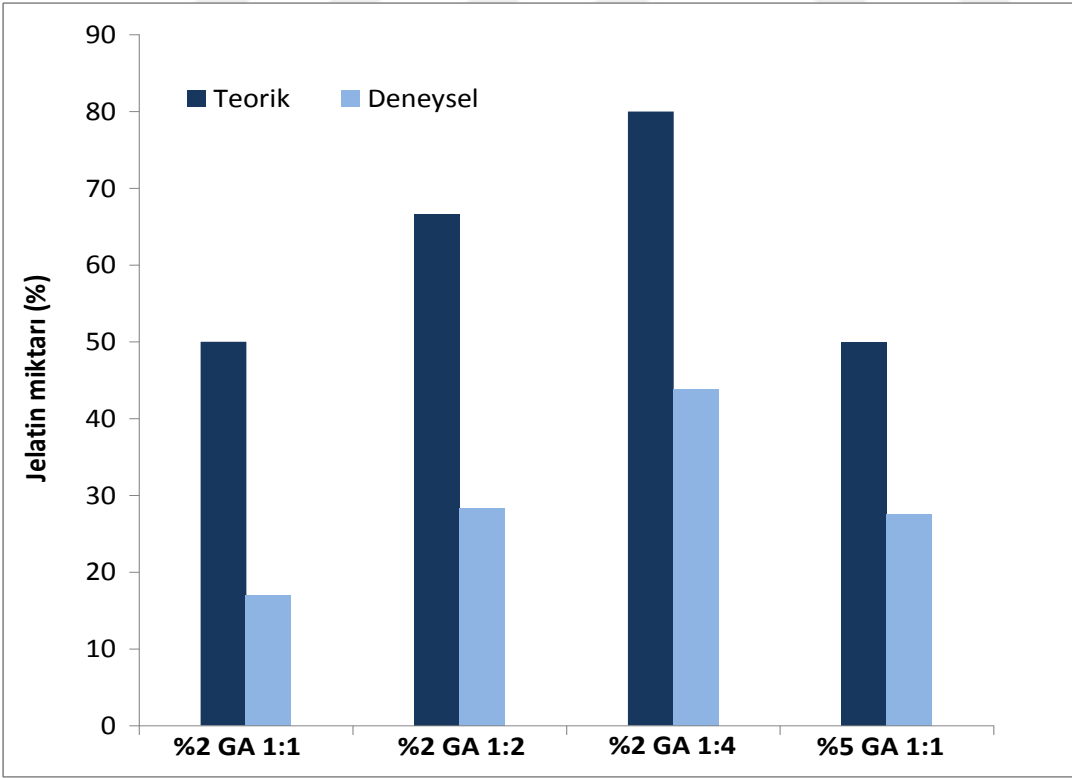
6.1.1.2. TGA analizi

Yaş çöktürme yöntemi ile üretilen HAp-GEL kompozitlerin TGA analizi sonuçları Şekil 6.3 ve Şekil 6.4’de görülmektedir. Analizler Perkin Elmer Diamond TG/DTA cihazında, azot ortamında 10°C/dakika yakma hızı ile , 25-550°C aralığında yapılmıştır.

Şekilde 6.3’te farklı HAp-GEL oranlarına sahip kompozitlerin karşılaştırmalı olarak TGA analizi sonuçları görülmektedir. Beklendiği üzere, organik faz olan jelatin içeriği arttıkça, ağırlık kaybı oranında da artış görülmüştür. Ancak, kompozitler içerisindeki HAp-GEL oranlarının teorik oranlardan sapma gösterdiği hesaplanmıştır Şekil 6.4’te, kompozitlerin ağırlıkça teorik ve deneysel HAp-GEL oranları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Deneysel oranlar, organik fazın tamamen jelatinden ve inorganik fazın tamamen hidroksiapatitten oluştuğu, ~550°C’ye gelindiğinde organik fazın tamamen yandığı kabulü ile yaklaşık olarak hesaplanmıştır.

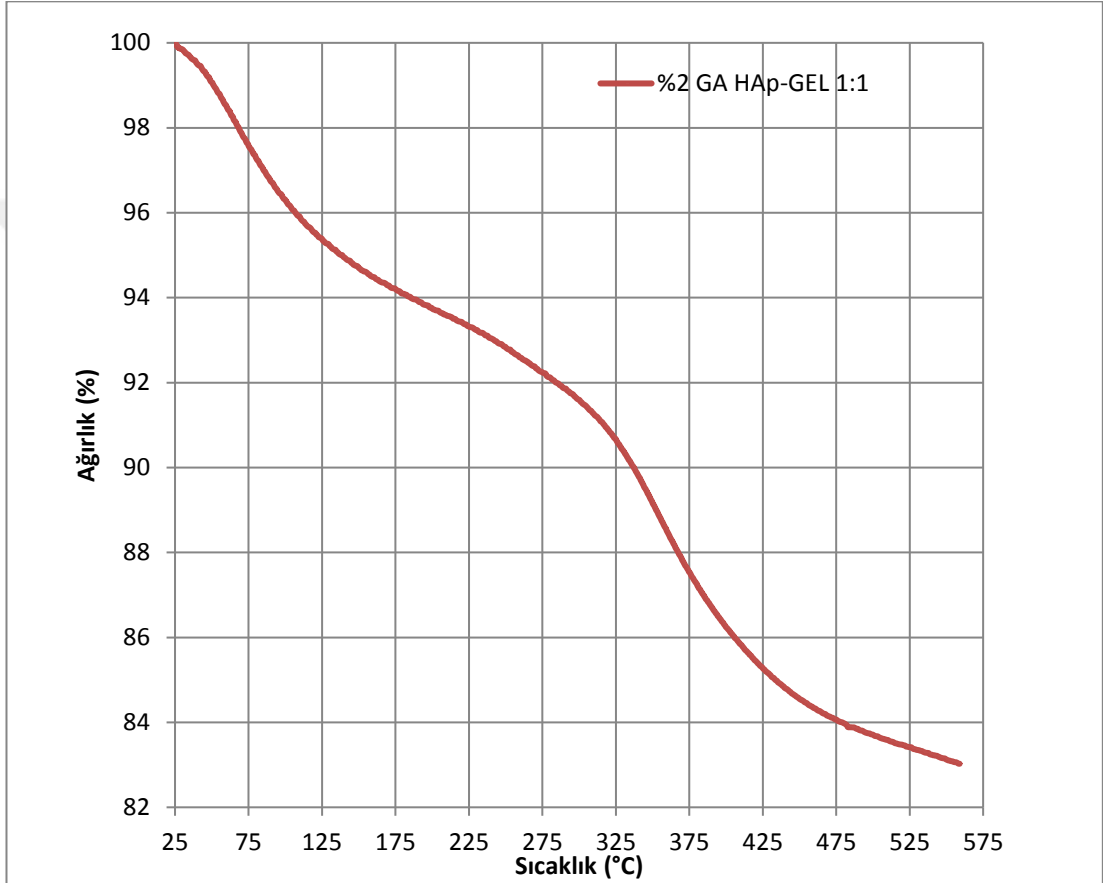


Şekil 6.3: %2'lik gluteraldehit çözeltisi ile çaprazlanmış HAp-GEL kompozitlerin TGA analizi sonuçları.



Şekil 6.4: Kompozitlerdeki teorik ve deneysel HAp-GEL oranları.

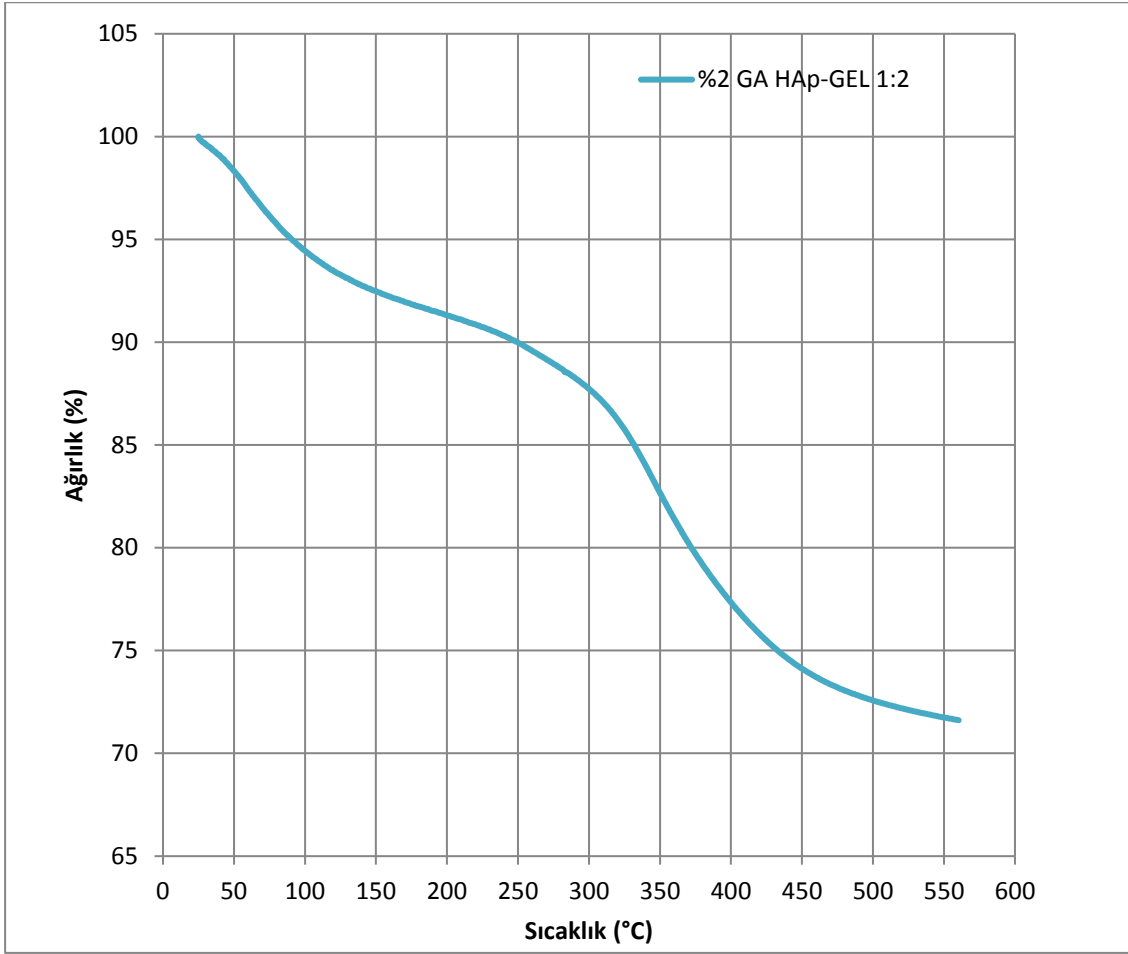
Şekil 6.4'te görüldüğü gibi, kompozitler içerisindeki jelatin oranı, teorik olarak hesaplanan oranlardan daha azdır. Bu durumun sebebi, süzme işlemi aşamasında SBF içerisinde çözülmüş olarak kalmış ve HAp kristallerine tutunmamış jelatinin bulunması olabilir. Ek olarak, çöktürme işlemi sırasında teorik olarak hesaplanan miktarda HAp kristali oluşmamış olması, dolayısı ile beklenenden daha fazla miktarda jelatin molekülünün HAp ile etkileşime girmeyerek süzme sırasında SBF ile beraber uzaklaştırılmış olması mümkündür.



Şekil 6.5: %2 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin TGA analizi.

Şekil 6.5'te görüldüğü gibi, sıcaklık artışı ile HAp-GEL kompozitler içerisindeki organik bileşenin kademeli olarak bozunması gerçekleşmiştir. Başlangıçta 50°C civarında gerçekleşen kütle kaybı, kompozitlerde bulunan nemin buharlaşması ile ilişkilendirilebilir. Şekil 6.5'te %2 GA HAp-GEL 1:1 kompoziti için yaklaşık olarak 50°C'ye gelindiğinde, GEL moleküllerinin bozunmasının başladığı ve 190°C civarına kadar sabite yakın bir hızla bozunmaya devam ettiği görülmektedir. 190°C - 300°C aralığında azalan bir hızla bozunma devam ederken, 300°C-400°C aralığında

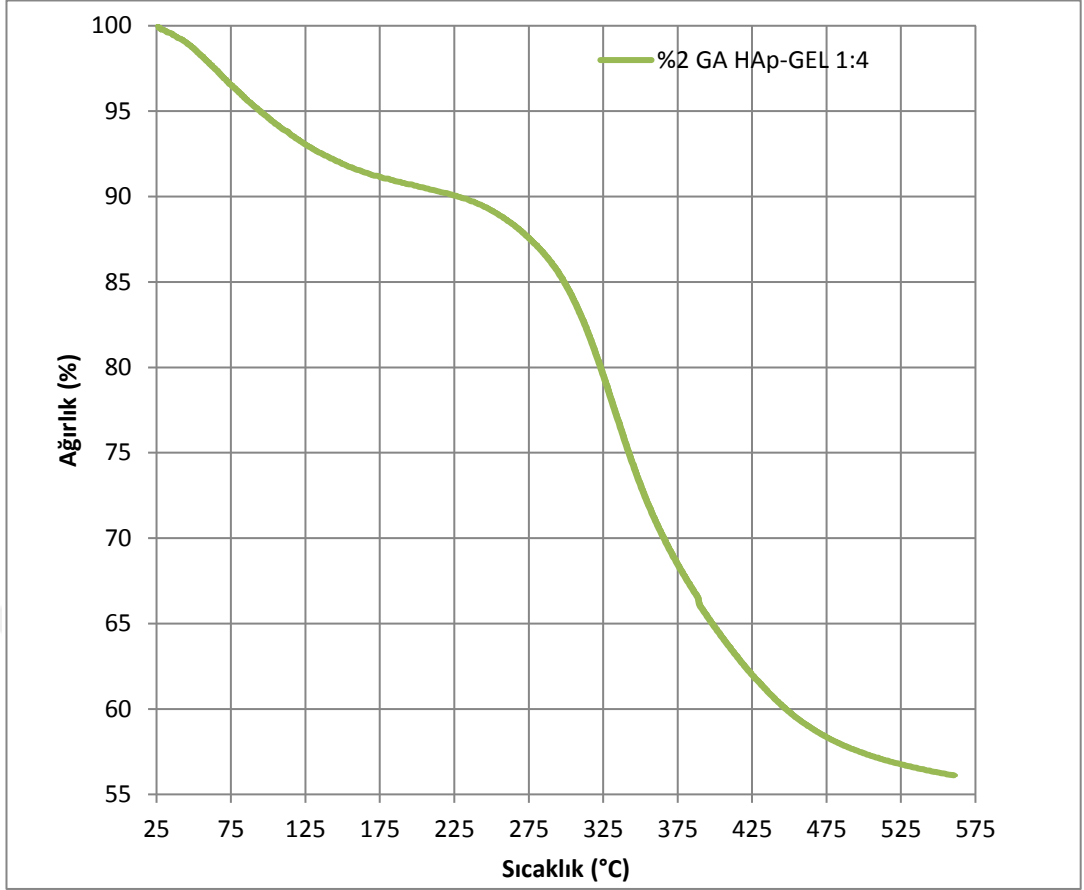
GEL moleküllerinin pirolizi sonucu kütle kaybı gerçekleşmiştir. 550°C üzerindeki sıcaklıklarda sadece HAp kristalleri yanmamış olarak kalmıştır [30].



Şekil 6.6: %2 GA HAp-GEL 1:2 kompozitinin TGA analizi.

Şekil 6.6'da % 2 GA HAp-GEL 1:2 TGA analizi sonucu görülmektedir. Yaklaşık olarak 100°C sıcaklığına ulaşılan aşamada nemin uzaklaşmasına bağlı olarak kütle kaybı gerçekleşmiştir. 100-250°C aralığında jelatin moleküllerinin bozunmasına bağlı olarak daha yavaş bir kütle kaybı gerçekleştiği görülmektedir. 250-450°C aralığında jelatin moleküllerinin pirolizi sonucu ani bir kütle kaybı oluşmuştur. 550°C'ye gelindiğinde eğrinin sabitlenmeye başladığı, kompozit içerisindeki jelatinin yanmasının tamamlandığı anlaşılmaktadır [30].

Şekil 6.7'de %2 GA HAp-GEL 1:4 TGA analizi sonucu görülmektedir. Numunede bulunan nemin uzaklaşmasına bağlı olarak ilk kütle kaybı 50°C'de gerçekleşirken, ~60°C'de jelatin moleküllerinin bozunması başlamıştır. 200-400°C aralığında, jelatin

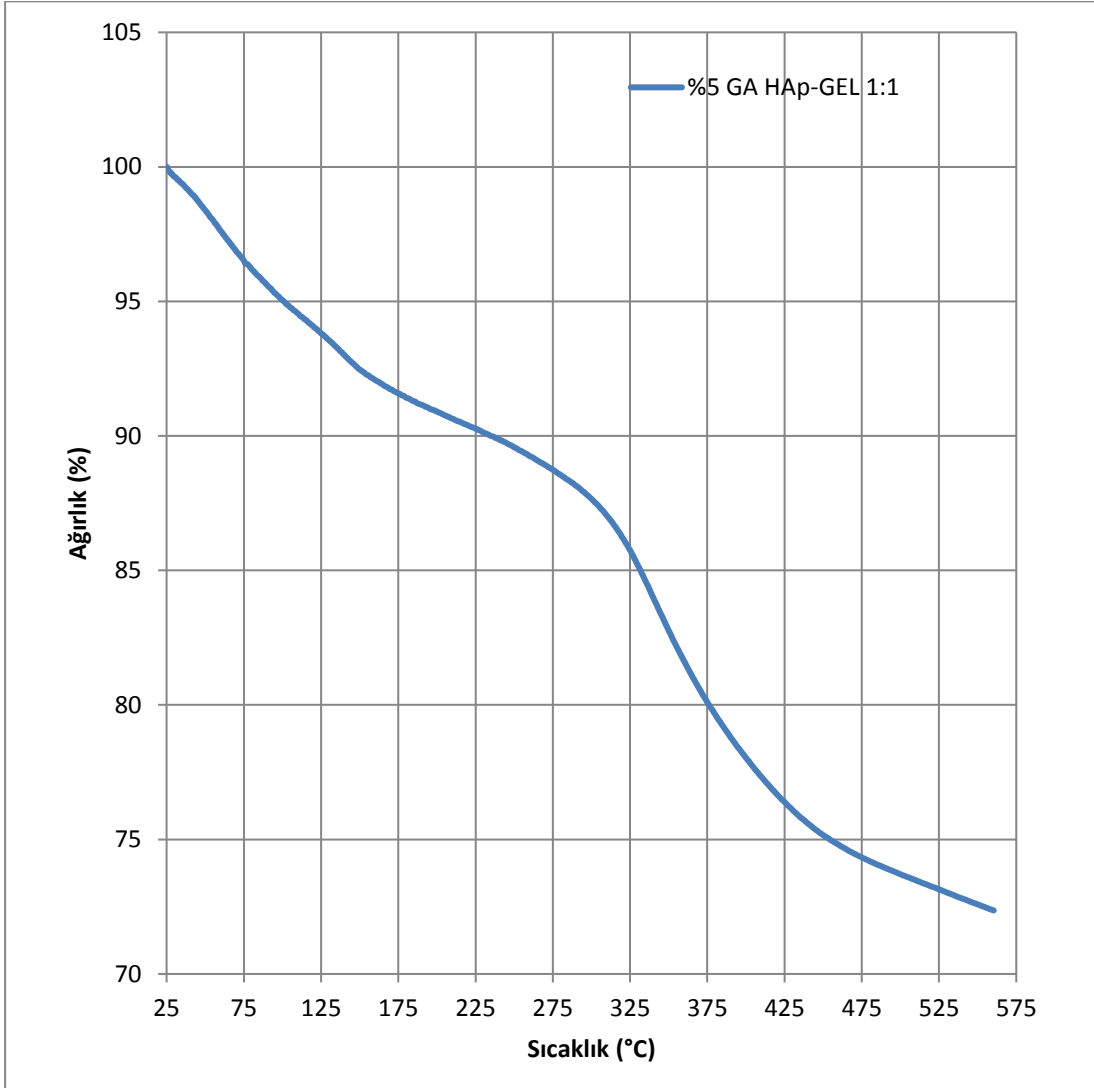


Şekil 6.7: %2 GA HAp-GEL 1:4 kompozitinin TGA analizi.

moleküllerinin pirolizine bağlı olarak ani bir kütle kaybı gerçekleşmiştir. ~550°C sonrasında yalnızca HAp kristalleri yanmadan kalmıştır.

TGA eğrilerine bakıldığında, kompozitlerde bulunan jelatinin moleküllerarası ve moleküliçi etkileşimleri ile ilgili yorum yapmak mümkündür. Jelatin moleküllerinin bozunmaya başlaması ile molekül içi bağlar açılmaya başlayıp, 60°C civarında ikincil yapı kaybının başlamasına sebep olmuş olabilir [30]. Bu şekilde, kompleks jelatin molekülleri termal etkiye daha açık hale gelmiştir. Sıcaklık artışı ile birlikte, jelatin molekülleri arasındaki tüm bağlar kırılana kadar kademeli olarak termal bozunma gerçekleşmiştir. Organik fazın karbonlaşması devam ederken, sıcaklık yükseldikçe karbonlaşma hızı kademeli olarak düşmeye başlamıştır. Bu durum, zamanla jelatin moleküllerinin gevşek bağlı kısımlarının azalması ile ilişkilendirilebilir. Her üç kompozit için de, HAp kristallerine güçlü bir şekilde bağlanmış jelatin molekülleri 300°C civarında bozunmaya başlamıştır.

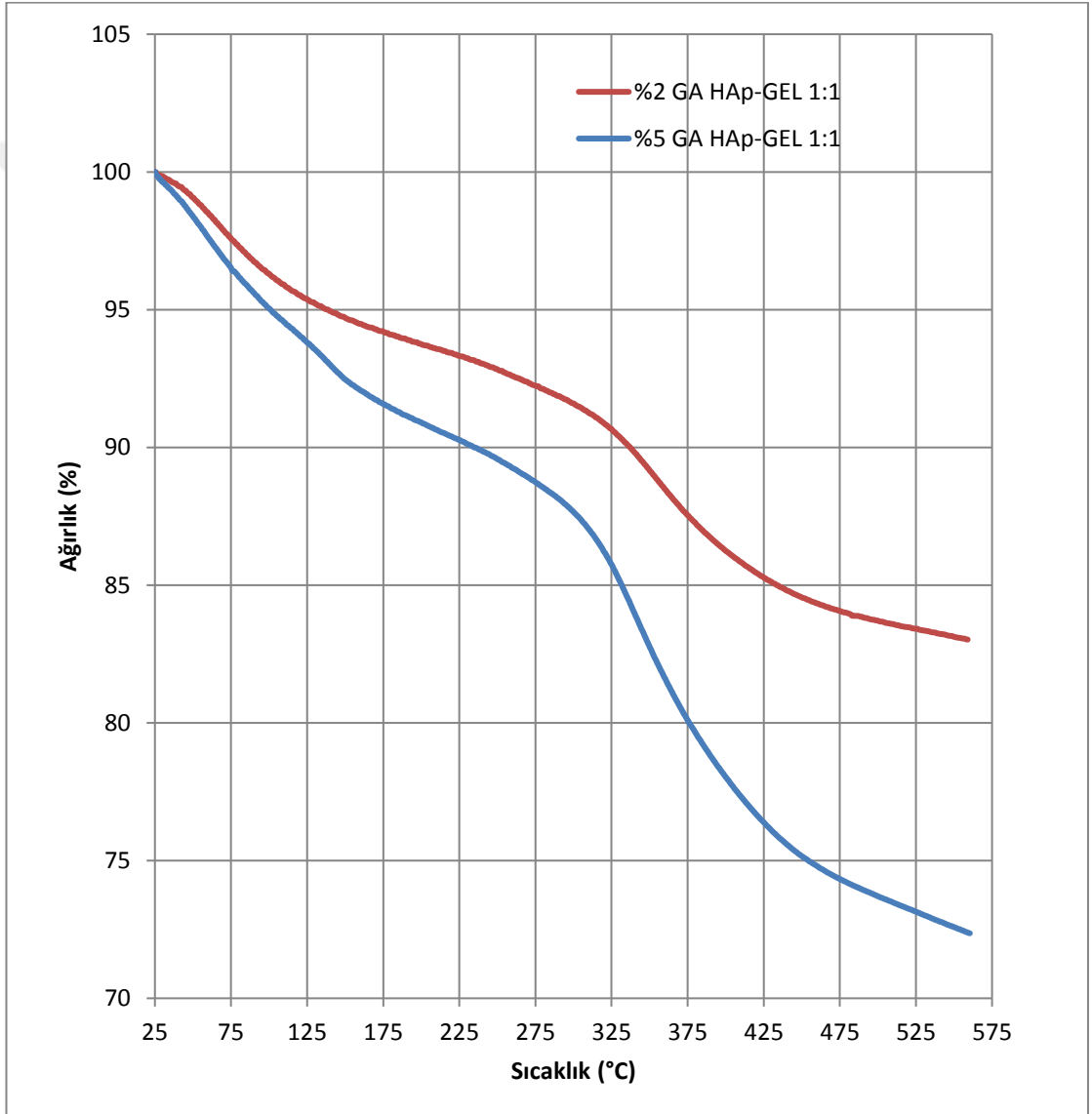
Şekil 6.3'e bakıldığında, kompozitlerin tamamen bozunması için gerekli olan sıcaklığın, jelatin oranı arttıkça arttığı görülmektedir. Bu durum, jelatin içeriği daha yüksek olan kompozitlerin daha fazla bağ içeriyor olması ile açıklanabilir. Saf jelatin ile karşılaştırıldığında 300°C yakınlarında görülen ani ağırlık kaybına bağlı eğrilerin, kompozitlerde bir miktar daha yüksek sıcaklıklarda oluştuğu görülmektedir. Bunun sebebi, çapraz bağlı kompozitlerin daha güçlü polimerik bağlara sahip olması olabilmektedir.



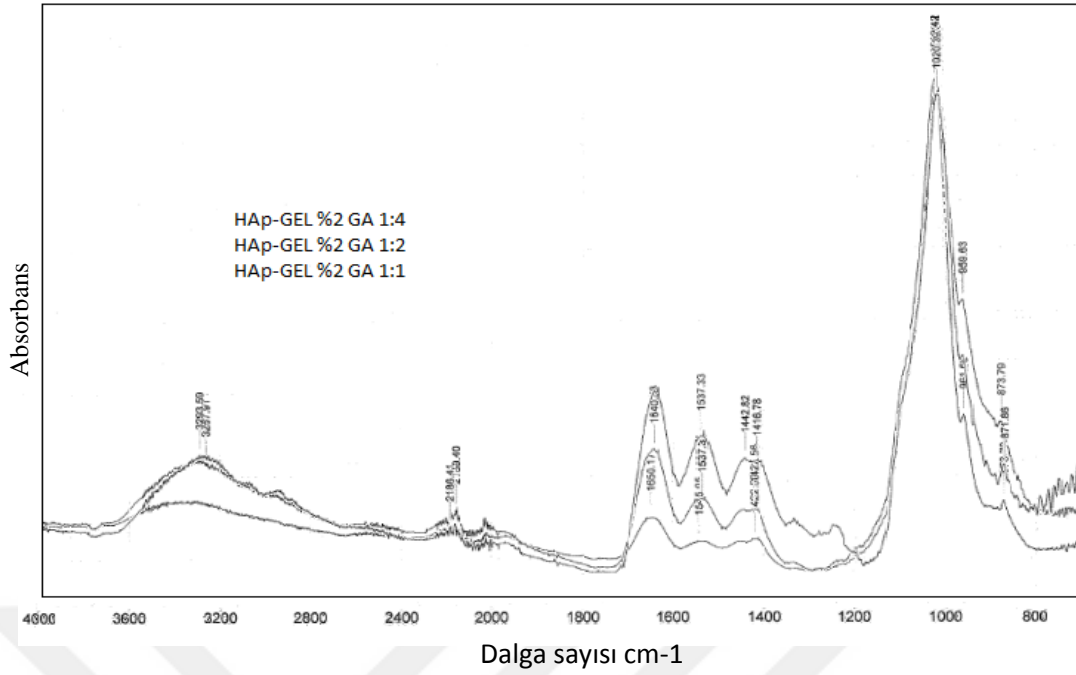
Şekil 6.8: %5 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin TGA analizi.

Şekil 6.8'de %5 GA HAp-GEL 1:1 kompozitine ait TGA analizi ve Şekil 6.9'da %2 ve %5 GA HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin karşılaştırmalı TGA analizleri verilmiştir.

Şekil 6.9'da yüksek gluteraldehit miktarı ile çaprazlanan kompozitin jelatin oranının daha fazla olduğu görülmektedir. Aldehit bazlı çapraz bağlama ajanları ile jelatin zincirleri arasında kovalent bağlar oluşturarak termal, mekanik ve nem dayanımının arttırılabildiği bilinmektedir [37]. Çapraz bağlama ajanının arttırılması ile, kompozitin üretimi aşamasında SBF içerisinde çözülmüş olarak kalan ve süzerek uzaklaştırılan jelatin oranı azalmış olabilir. Bu şekilde, HAp ile etkileşime giren jelatin miktarı artmıştır. Artan çapraz bağlama ajanı miktarı ile beraber kompozit içerisinde tutulan jelatin miktarının da arttığı TGA analizi ile doğrulanmıştır.



Şekil 6.9: %2 GA ve %5 GA HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı TGA analizi.



Şekil 6.11: %2 GA HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları (2).
görülen P-O esnemeleri HAp kristallerinde bulunan simetrik moddaki PO₄ varlığına atfedilmiştir.

HAp-GEL kompozitlerinde yer aln bağlar Çizelge 6.2’de verilmiştir.

Çizelge 6.2: HAp-GEL kompozitlerinin içerdiği bağlar.

Numuneler	Dalga Sayısı (cm ⁻¹)						
	PO ₄	O-H	H-O-H	CO ₃	Amit-I	Amit-II	C-H
%2 GA HAp-GEL 1:1	1020,39 961,56	3000-3600	3680-3840	1422,56 873,79	1650,17	1545,05	2000-2400
%2 GA HAp-GEL 1:2	1019,42 959,63	3257,91	3680-3840	1422,56 87379	1640,53	1537,33	2159,40
%2 GA HAp-GEL 1:4	1020,39 950-960	3293,59	3680-3840	1416,78 1442,82 871,86	1600-1700	1537,33	2186,41
%5 GA HAp-GEL 1:1	1018,46 ~900	3270,45	-	1419,67 874,76	1641,49	1536,37	-

Şekil 6.10’da 3000 cm⁻¹ ve 3600 cm⁻¹ arasında görülen bantlar O-H esnemesine bağlı olmakla birlikte karakteristik HAp piklerindedir. Chang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada olduğu gibi, kompozitlerdeki jelatin oranı arttıkça, O-H esneme bantlarının şiddetinin arttığı görülmüştür. Her üç kompozitte de 3680 cm⁻¹ ve 3840

cm^{-1} arasında tipik H-O-H bandı görülmektedir. H-O-H bantlarının, HAp yüzeyinde bulunan su moleküllerinin bağlanma enerjisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

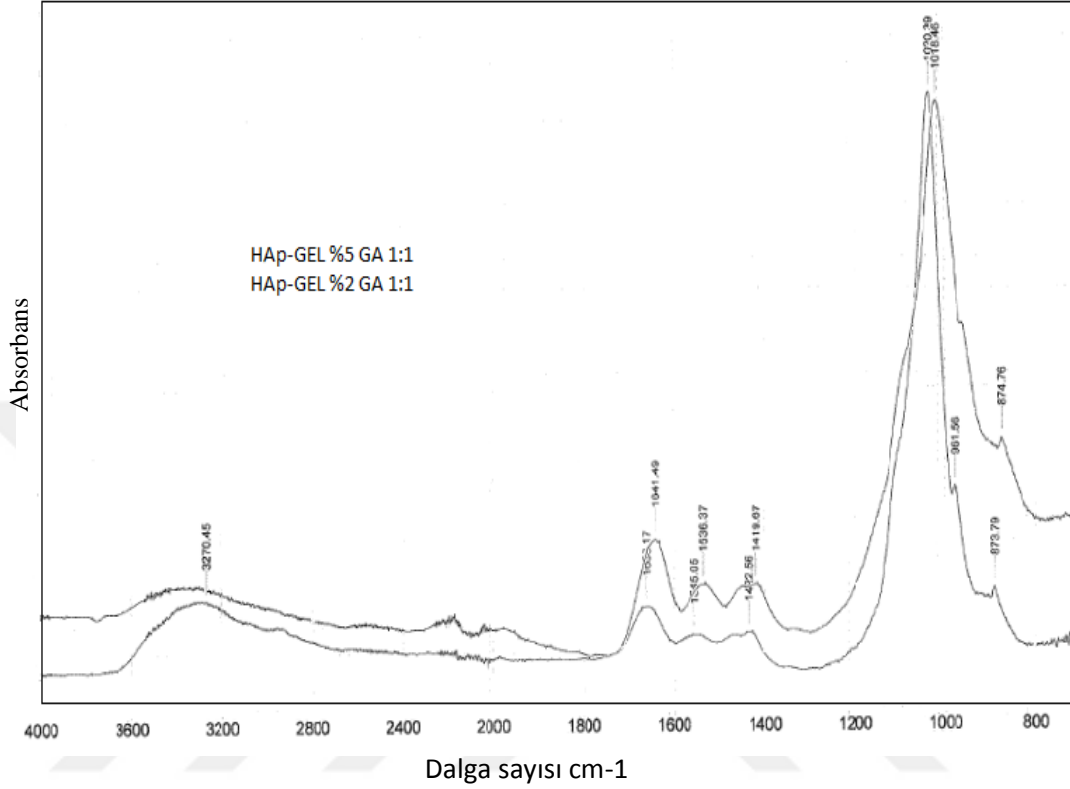
HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinde sırası ile görülen $1422,56 \text{ cm}^{-1}$, $1422,56 \text{ cm}^{-1}$, $1416,78 \text{ cm}^{-1}$ bantları ν_3 titreşimsel modundaki CO_3 iyonları kaynaklıdır. $\nu_3 \text{ CO}_3$ bantlarının, iki pike bölünmüş şekilde bulunduğu gözlemlenmiştir. $873,79 \text{ cm}^{-1}$, $873,79 \text{ cm}^{-1}$ ve $871,86 \text{ cm}^{-1}$ bantları ise ν_2 titreşimsel modundaki CO_3 iyonları varlığını göstermektedir. Chang ve arkadaşları, büyüyen HAp ksitallerinin arayüzünde ν_2 bölgeleri kullanımının OH- ve karbonat grupları arasındaki, ν_3 bölgeleri kullanımının ise fosfat ve karbonat iyonları arasındaki üstünlüğe bağlı olduğunu belirtmişlerdir.

Şekil 6.10'da görüldüğü gibi, HAp-GEL kompozitlerindeki $\nu_3 \text{ CO}_3$ bantlarının şiddeti kompozitlerdeki jelatin miktarı arttıkça artış göstermiştir. Mir ve arkadaşları, daha küçük boyutlu HAp kristallerinde CO_3 ve H_2O gruplarının PO_4 bölgelerine daha etkili katılımının gerçekleştiğini belirtmiştir. Bera ve arkadaşları, artan jelatin konsantrasyonlarında HAp kristalleri oluşumunun sınırlandığını, jelatinin HAp kristallerini sarmalayarak kristallerin büyümesine engel olduğunu raporlamıştır [30]. Bu nedenle, jelatin miktarı arttıkça CO_3 bandı şiddetinin artmasının HAp kristalleri boyutunun küçülmesi ile bağlantılı olduğu yorumu yapılabilir.

Şekil 6.10'da HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinde $1600-1700 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen bantlar amit I, $1500-1600 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen bantlar ise amit II bantlarıdır. Kompozitlerdeki jelatin oranı arttıkça, amit bantları şiddetinin de arttığı görülmektedir. Buna bağlı olarak, jelatin oranı arttıkça kompozitlerdeki organik- inorganik etkileşimin arttığı söylenebilir. Kompozitlerde artan jelatin oranı ile 1200 cm^{-1} ve 1300 cm^{-1} aralığında ortaya çıkan pikler, P-O-H esnemelerine işaret etmektedir. Bu aralıktaki P-O-H esnemeleri HAp fazı ve jelatin arasındaki organik bağlantıyı yansıtmaktadır. Ancak Azami ve arkadaşları, HAp yapısından gelen Ca iyonları ve jelatin yapısından gelen COO^- grupları etkileşimini 1345 cm^{-1} değerinde görülen pikler ile doğrulamışlardır. Bu nedenle $1200-1300 \text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen pikler, Ca-COO bağlarının varlığı ile de ilişkilendirilebilir.

Şekil 6.10'da görüldüğü gibi her üç kompozitte de 2000 cm^{-1} ve 2400 cm^{-1} aralığında C-H bağları ile ilişkilendirilebilecek pikler oluşmuştur. Bu pikler, jelatin

amino asit zincirleri arasında glutaraldehit molekülleri tarafından oluşturulan bağların sonucu olarak açıklanabilir. Çaprazlama reaksiyonu sonucu açığa çıkan C_3H_3 molekülleri, C-H bağlarının kaynağı olabilmektedir [35].

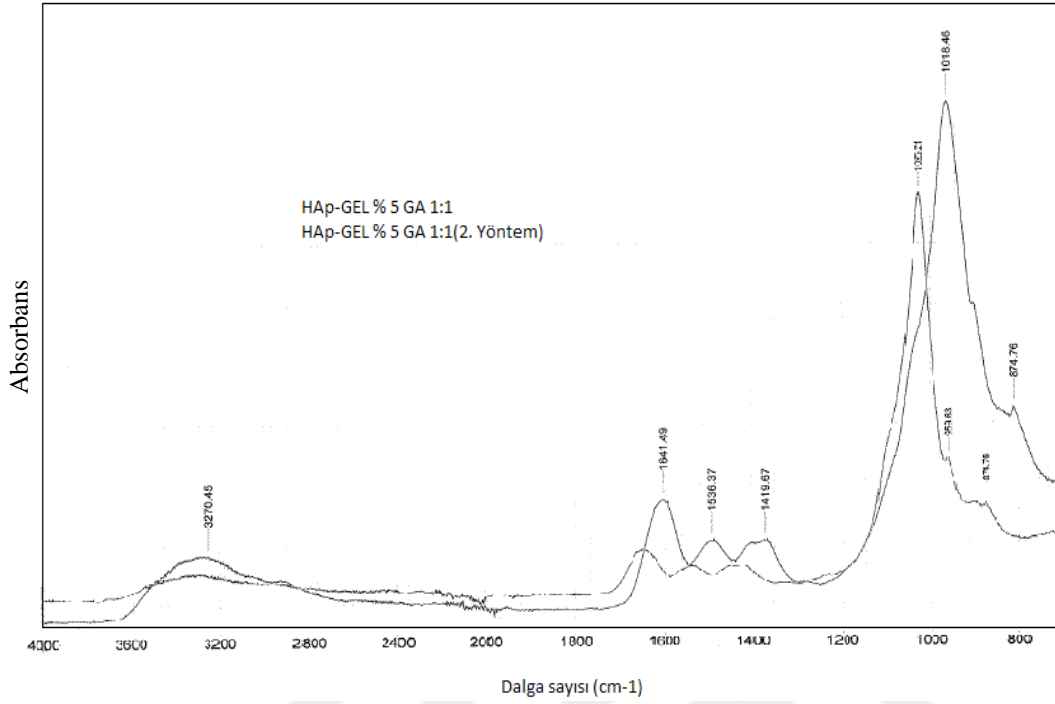


Şekil 6.12: %2 ve %5 GA 1:1 HAp-GEL kompozitlerinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

Şekil 6.12’de farklı GA miktarları ile çapraz bağlanmış HAp-GEL kompozitlerinin FTIR spektrumları karşılaştırmalı olarak görülmektedir. Yüksek GA miktarı ile hazırlanan HAp-GEL 1:1 kompozitinde de, karakteristik HAp pikleri görülmüştür. $1018,46\text{ cm}^{-1}$ ve 900 cm^{-1} civarında sırası ile ν_3 ve ν_1 PO_4 bantları, $3270,45\text{ cm}^{-1}$ ’de O-H esneme bandı, $874,76\text{ cm}^{-1}$ ve $1419,67\text{ cm}^{-1}$ de sırası ile ν_2 ve ν_3 CO_3 bantları görülmektedir. $1641,49\text{ cm}^{-1}$ ’de amit I ve $1536,37\text{ cm}^{-1}$ ’de amit II bandı bulunmaktadır.

Şekil 6.12’ye bakıldığında, çaprazlama ajanı miktarı artırıldığında, amit I ve amit II pikleri şiddetinin arttığı görülmüştür. Bu durum TGA analizlerinde de doğrulandığı şekilde çaprazlama ajanı miktarı arttıkça kompozitlerde tutulan jelatin miktarının artması ile açıklanabilir. Bununla birlikte, 800 ve 1000 cm^{-1} aralıklarında görülen PO_4 ve CO_3 bandı pikleri şiddetinde de artış görülmektedir. Şekil 6.10’da yorumlandığı gibi, artan jelatin miktarının küçük boyutlu HAp oluşumuna neden

olduğu, PO₄ ve CO₃ grupları artışının bu varsayımı doğruladığı sonucuna varılabilmektedir.



Şekil 6.13: %5 GA HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin karşılaştırmalı FTIRspektrumları.

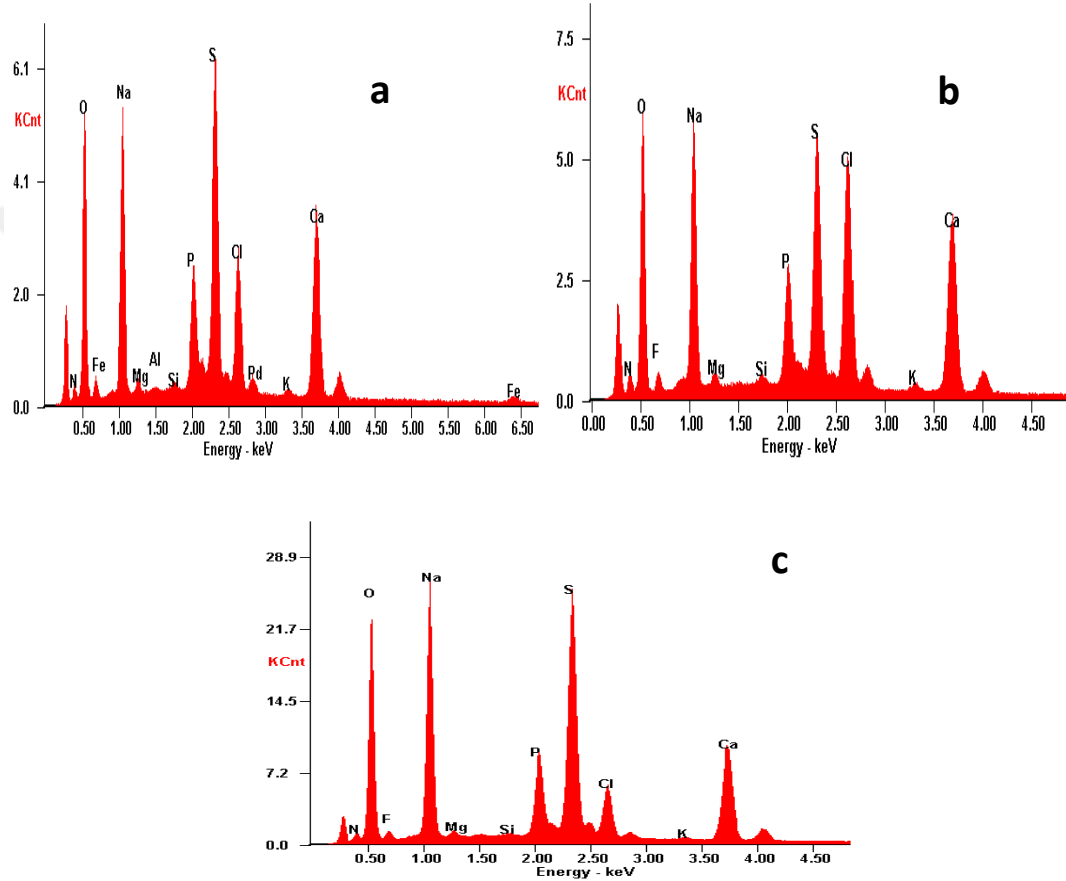
Şekil 6.13'te yaş çöktürme yöntemi sırasında çapraz bağlanma süresine göre farklı şekilde üretilen %5 GA HAp-GEL kompozitlerinin FTIR spektrumları görülmektedir. Şekile bakıldığında 2. yöntem ile elde edilen, yani daha uzun süre çapraz bağlama uygulanan numunede jelatin varlığından kaynaklanan amit-I ve amit-II pikleri ile HAp varlığını gösteren fosfat ve karbonat piklerinin daha sönük olduğu görülmektedir. Ağırlıkça elde edilen kompozit miktarının da 2. yöntem ile daha düşük olduğu Çizelge 6.1'de görülmektedir. Chang ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışmada çöktürme yöntemi ile HAp-GEL kompozit üretimi gerçekleştirmiş ve oluşum mekanizmalarını açıklamışlardır. Ca(OH)₂ çözeltisi içerisine H₃PO₄ ve jelatin içeren çözelti eklendiğinde, Ca(OH)₂ çözeltisinde bulunan serbest Ca²⁺ iyonları ile fosfatın sıvı jelatin damlacıkları içinde kalsiyum fosfat nanokristalleri oluşturdukları düşünülmüştür [37]. Bu mekanizma gözönüne alındığında, daha uzun süre çaprazlama yapıldığında güçlenen jelatin bağlarının HAp kristalleri oluşumunu sınırlandırdığı, sonuç olarak oluşan HAp miktarı ve HAp ile etkileşime giren jelatin miktarının da daha az olduğu yorumu yapılabilir.

6.2. İlaç Yükleme ve Salım Deney Sonuçları

6.2.1. İlaç yüklü HAp-GEL kompozitlerin incelenmesi

6.2.1.1. EDS analizi sonuçları

Şekil 6.14'te ilaç yüklü HAp-GEL kompozitleri EDS analizi sonuçları görülmektedir. Analizler AMETEK marka Edax cihazı ile yapılmıştır.



Şekil 6.14: EDS analizi sonuçları (a)%2 GA HAp-GEL-5-FU 1:1, b) %2 GA HAp-GEL-5-FU 1:2, c) %5 GA HAp-GEL-5-FU 1:1.

HAp-GEL numuneleri Ca/P oranları Çizelge 6.3'te verilmiştir. Kompozitlerde jelatin miktarı arttırıldığında Ca/P oranının arttığı, kullanılan çapraz bağlama ajanı arttırıldığında ise Ca/P oranının azaldığı görülmektedir.

Saf hidroksiapatitte elde edilmesi beklenen Ca/P oranı 1,67'dir [18]. Hazırlanan HAp-GEL numunelerinde 1,67 oranı elde edilememiştir. Bu durum, numunelerin SBF ortamında hazırlanması ile açıklanabilir. İnsan kan plazmasına benzer iyon

Çizelge 6.3: HAp-GEL numunelerine ait Ca/P oranları.

Numuneler	Ca/P oranı
%2 GA HAp-GEL 1:1	1,88
%2 GA HAp-GEL 1:2	1,91
%5 GA HAp-GEL 1:1	1,49

konsantrasyonu ve pH değerine sahip olan SBF çözeltisinde, kalsiyum fosfat çökmesinin biyolojik mineralizasyon ile benzer olduğu bilinmektedir [39]. Biyolojik koşullarda hidroksiapatit kalsiyumca eksik, karbonatlı ve yer değiştirmiş iyonlara sahip olması nedeni ile stokiyometrik olmayan oranlarda oluşabilmektedir. Bununla birlikte, HAp-GEL numuneleri hazırlanması sırasındaki çöktürme aşamasında, ortam koşullarına bağlı olarak farklı kalsiyum fosfatlı bileşiklerin oluşması mümkündür.

Çizelge 6.4: SBF içerisinde kalsiyum fosfat çökmesi süresince gerçekleşen reaksiyonlar [39].

$H_2CO_3(aq.) \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$
$HCO_3^- \rightleftharpoons H^+ + CO_3^{2-}$
$H_3PO_4(aq.) \rightleftharpoons H^+ + H_2PO_4^-$
$H_2PO_4^- \rightleftharpoons H^+ + HPO_4^{2-}$
$H_2PO_4^{2-} \rightleftharpoons H^+ + PO_4^{3-}$
$Ca^{2+} + HCO_3^- \rightleftharpoons CaHCO_3^+$
$Ca^{2+} + CO_3^{2-} \rightleftharpoons CaCO_3(aq.)$
$Ca^{2+} + OH^- \rightleftharpoons CaOH^+$
$Ca^{2+} + H_2PO_4^- \rightleftharpoons CaH_2PO_4^+$
$Ca^{2+} + HPO_4^{2-} \rightleftharpoons CaHPO_4(aq.)$
$Ca^{2+} + PO_4^{3-} \rightleftharpoons CaPO_4^-$
$Mg^{2+} + HCO_3^- \rightleftharpoons MgHCO_3^+$
$Mg^{2+} + CO_3^{2-} \rightleftharpoons MgCO_3(aq.)$
$Mg^{2+} + OH^- \rightleftharpoons MgOH^+$
$Mg^{2+} + H_2PO_4^- \rightleftharpoons MgH_2PO_4^+$
$Mg^{2+} + HPO_4^{2-} \rightleftharpoons MgHPO_4(aq.)$
$Mg^{2+} + PO_4^{3-} \rightleftharpoons MgPO_4^-$

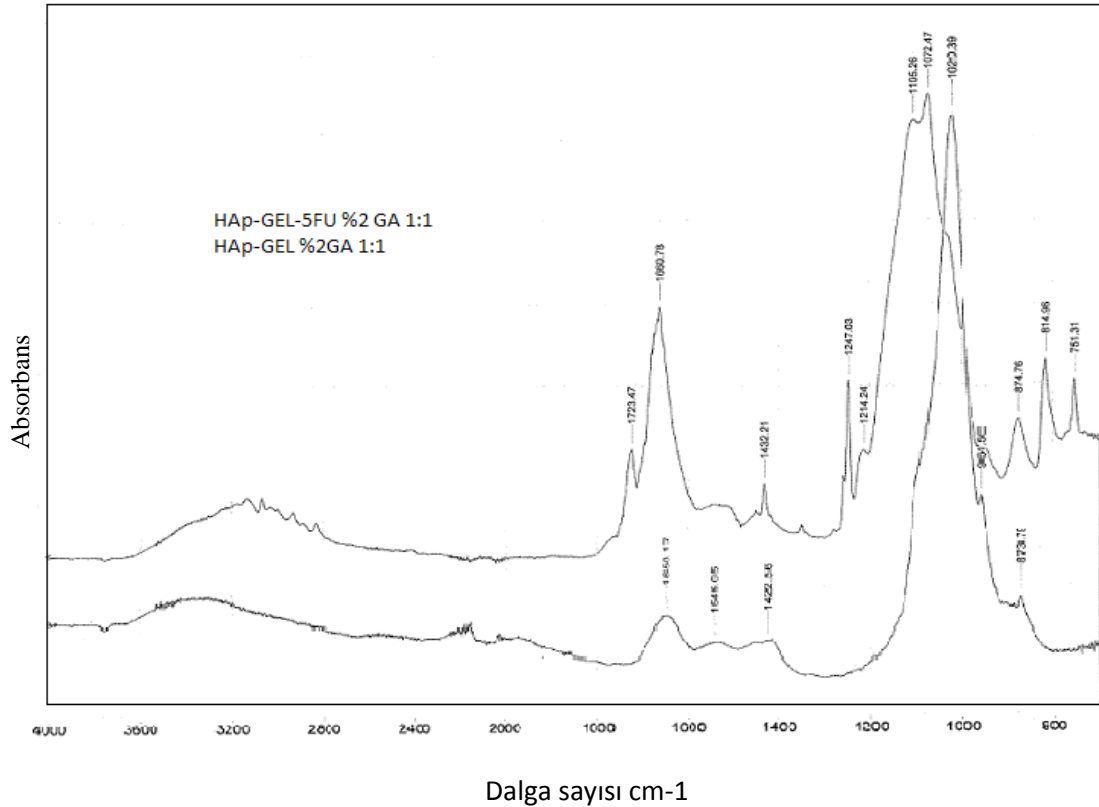
Çizelge 6.4'te SBF içerisinde kalsiyum fosfat çökmesi süresince gerçekleşen reaksiyonlar verilmiştir. Dikalsiyum fosfat (DCPD) ve oktakalsiyum fosfat (OCD), hidroksiapatite ek olarak oluşması muhtemel başlıca bileşiklerdir. Lu ve arkadaşları, HAp çekirdeklenme hızının pH değerinden önemli derecede etkilendiğini raporlamışlardır. Yüksek pH HAp oluşumuna daha elverişli bir ortam yaratırken, HAp çekirdeklenme hızı pH değeri 10'a yaklaşırken OCD ve DCPD'nin

çekirdeklenme hızına yaklaşmaktadır. SBF çözeltisinde kalsiyum ve fosfat iyonlarının normalden yüksek seviyeye ulaşması durumunda DCPD oluşumunun mümkün olduğu görülmüştür. Bu sebeplerle, çözeltisi hazırlanmasında gerçekleşen muhemel pH değişimlerinin ve farklı kalsiyum fosfat fazı oluşumunun stokiyometrik olmayan oranlarda HAp elde edilmesine neden olması mümkündür.

6.2.1.2. FTIR analizi

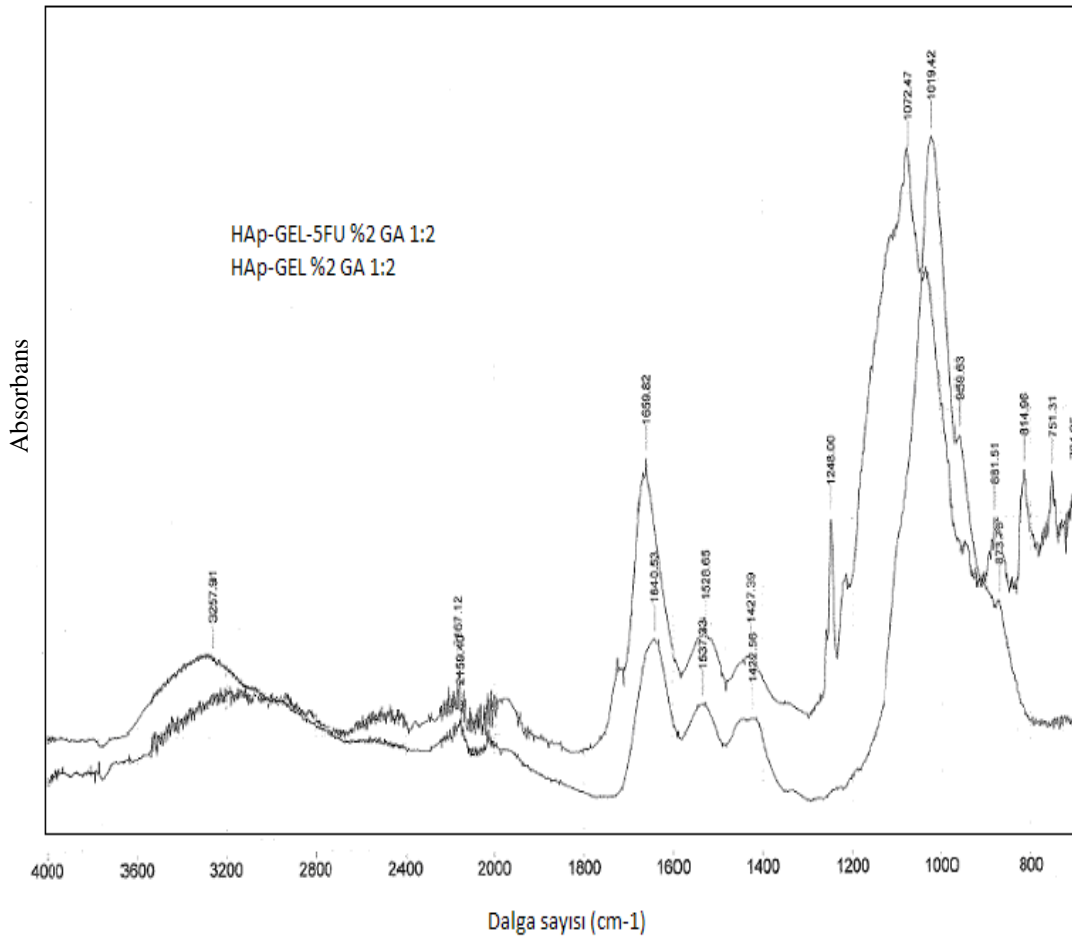
Yaş çöktürme yöntemi ile üretilen, değişen jelatin ve glutraldehit oranlarına sahip ilaç yüklü HAp-GEL kompozitlerinin FTIR spektrumları 4000-700 cm^{-1} dalga boyları arasında elde edilmiştir.

Şekil 6.15'te ilaç yüklü %2 GA HAp-GEL 1:1, Şekil 6.16'da ilaç yüklü %2 GA HAp-GEL 1:2, Şekil 6.17'de %2 GA HAp-GEL 1:4 ve Şekil 6.18'de ilaç yüklü %5 GA HAp-GEL 1:1 numunelerine ait FTIR spektrumları ilaç yüklenmemiş durumları ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir.



Şekil 6.15: %2 GA HAp-GEL 1:1 ilaçlı ve ilaçsız kompozitinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

Her üç numuneye ait FTIR analizlerinde de karakteristik 5-FU pikleri görülmektedir. Şekil 6.15, Şekil 6.16 ve Şekil 6.17’de sırası ile $1660,78\text{ cm}^{-1}$, $1659,82\text{ cm}^{-1}$ ve $1660,78\text{ cm}^{-1}$ dalga boylarında görülen pikler C-N esneme bandının göstergesidir. $1723,47\text{ cm}^{-1}$ ve $1722,51\text{ cm}^{-1}$ ’de C=O bantları görülürken, $1247,03\text{ cm}^{-1}$ ve 1248 cm^{-1} dalga boylarında düz CH bantları bulunmaktadır. Düzlem dışı CH bantları ise $874,76\text{ cm}^{-1}$, $881,51\text{ cm}^{-1}$ ve $874,76\text{ cm}^{-1}$ dalga boylarında görülmektedir [40]. HAp-GEL numunelerinde görülen tüm karakteristik 5-FU pikleri Çizelge 6.5’te verilmiştir.

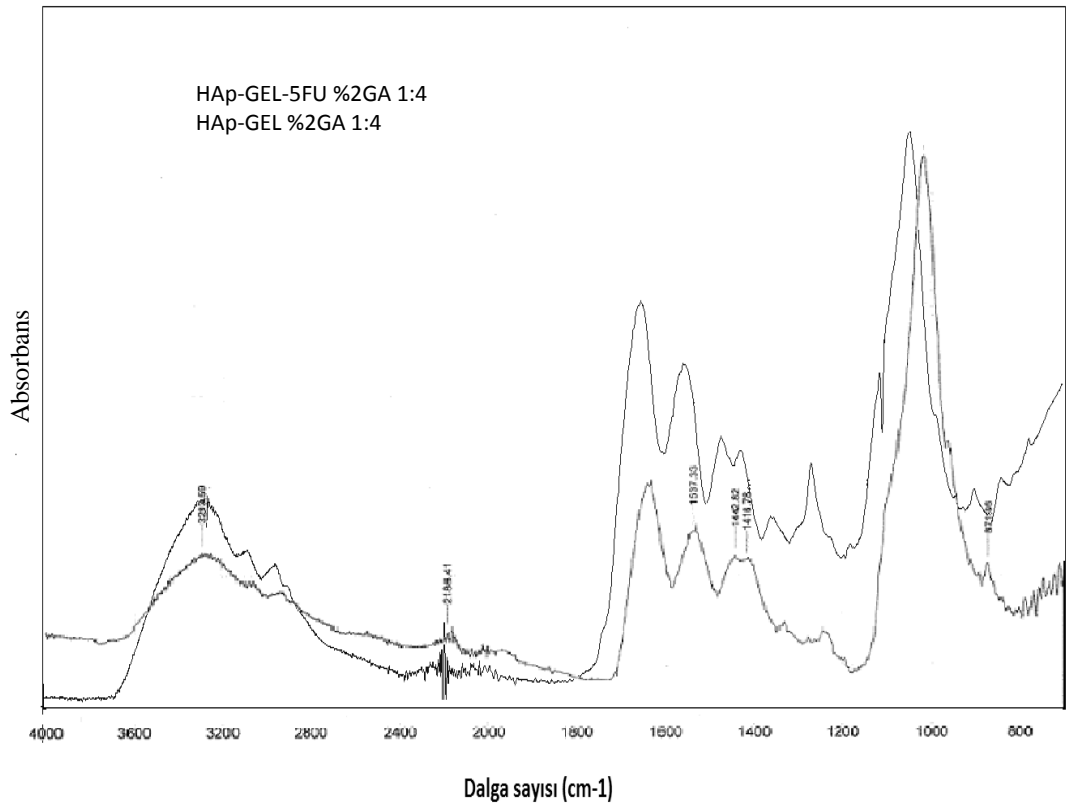


Şekil 6.16: %2 GA HAp-GEL 1:2 ilaçlı ve ilaçsız kompozitinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

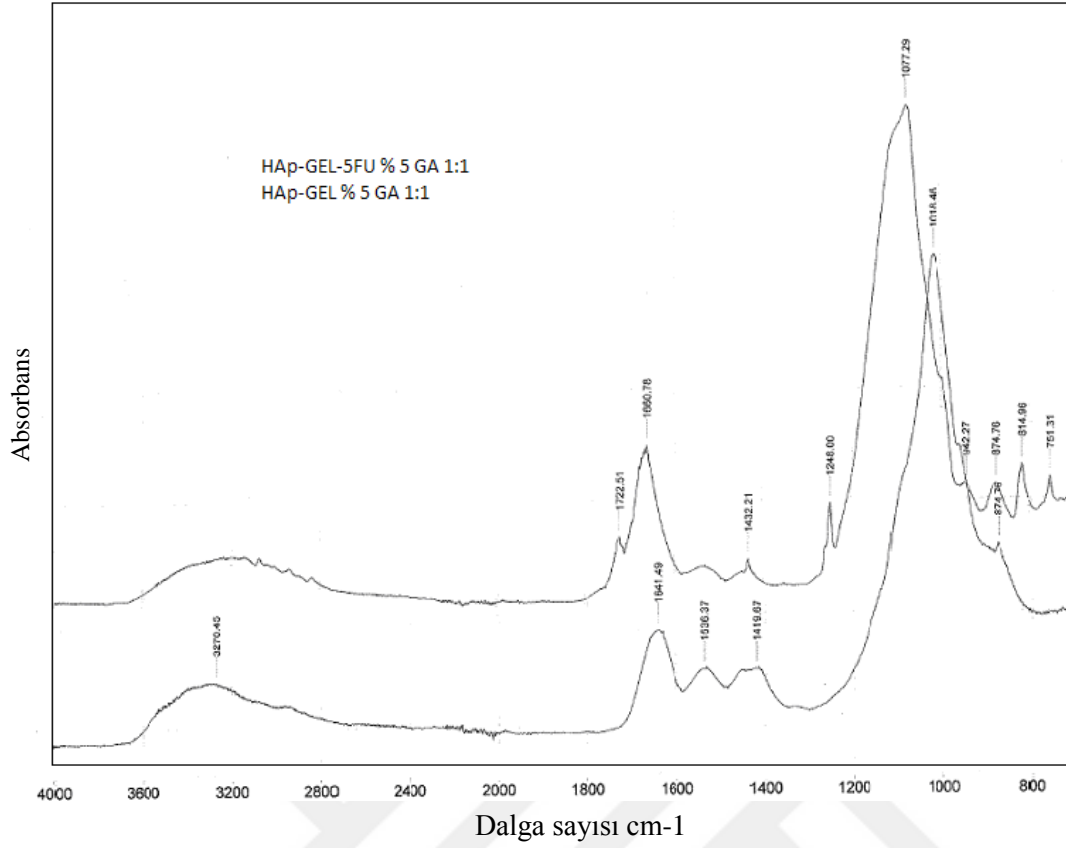
Her üç numunenin ilaçsız FTIR analizinde 1020 cm^{-1} civarında görülen karakteristik PO_4 pikleri, ilaç yüklemesi sonrası kayma göstermiştir. Bu nedenle, 5-FU’nun HAp yapısında bulunan fosfat ile bağ oluşturduğu yorumu yapılabilir.

Çizelge 6.5: 5-FU karakteristik pikleri [42].

Kompozit	Dalga sayısı (cm ⁻¹)
%2 GA HAp-GEL 1:1	1723,47, 1660,78, 1432,21, 1247,03, 1214,24, 874,76, 814,96, 751,31
%2 GA HAp-GEL 1:2	2167,12, 1659,82, 1427,39, 1248, 881,51, 814,96, 751,31
%5 GA HAp-GEL 1:1	1722,51, 1660,78, 1432,21, 1248, 942,27, 814,96, 751,31



Şekil 6.17: %2 GA HAp-GEL 1:4 ilaçlı ve ilaçsız kompozitinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.



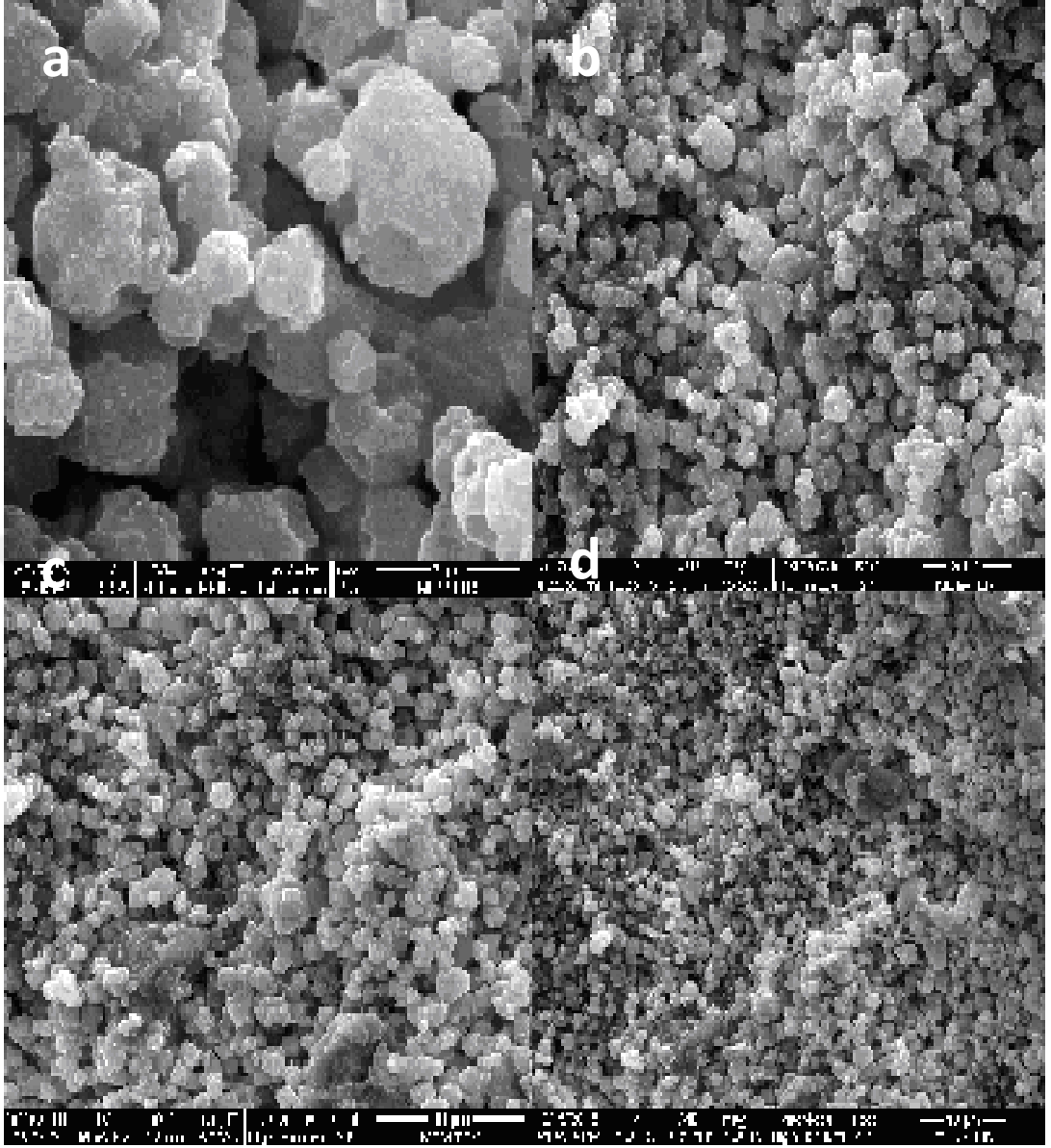
Şekil 6.18: %5 GA HAp-GEL 1:1 ilaçlı ve ilaçsız kompozitinin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.

6.2.1.3. SEM Analizi

Şekil 6.19, Şekil 6.20, Şekil 6.21 ve Şekil 6.22’de püskürtmeli kurutucu ile elde edilen ilaç yüklü HAp-GEL kompozitlerinin SEM analizleri görülmektedir.

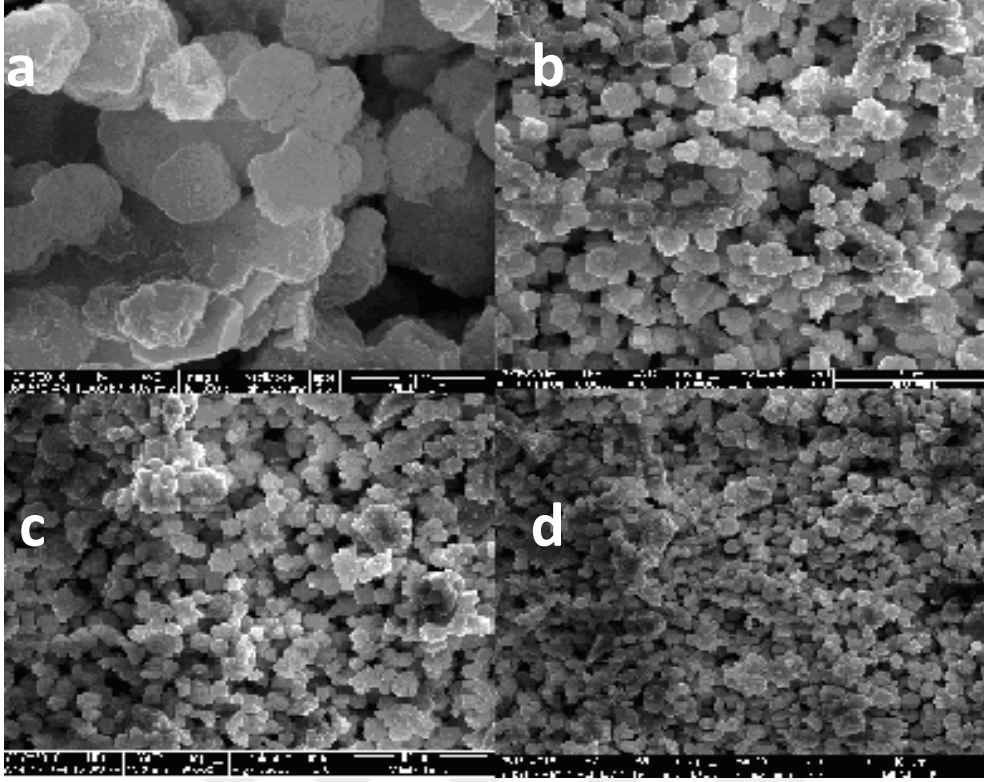
Tüm kompozitlerde, ilaç yüklü küresel katı partiküllerin oluştuğu gözlenmektedir. Bununla birlikte, saf jelatin mikrokürelerinin morfolojisi ile benzer olarak birbiri ile bitişik yapıda olan kürecikler bulunmaktadır [31]. Aglomerasyon nedeni ile düzensiz yapıların da oluştuğu görülse de, püskürtmeli kurutucu kullanımı ile çoğunlukla küresel yapıda parçacıklar elde edilmiştir. Farklı morfolojideki oluşumlar, safsızlıklar kaynaklı olabilir [28]. Düzenli bir partikül boyutu dağılımı görülmemektedir.

Şekil 6.19 ve 6.20’da düşük GA içeren ve jelatin oranı 1:1 ve 1:2 olan HAp-GEL kompozitlerinin SEM analizleri verilmiştir. Her üç kompozit için de, partikül boyutlarının 2-5µm arasında değiştiği görülmektedir. İlaç taşıyıcı olarak bu şekilde küçük boyutlarda mikroküreler kullanıldığında, düzenli bir ilaç dağılımının elde

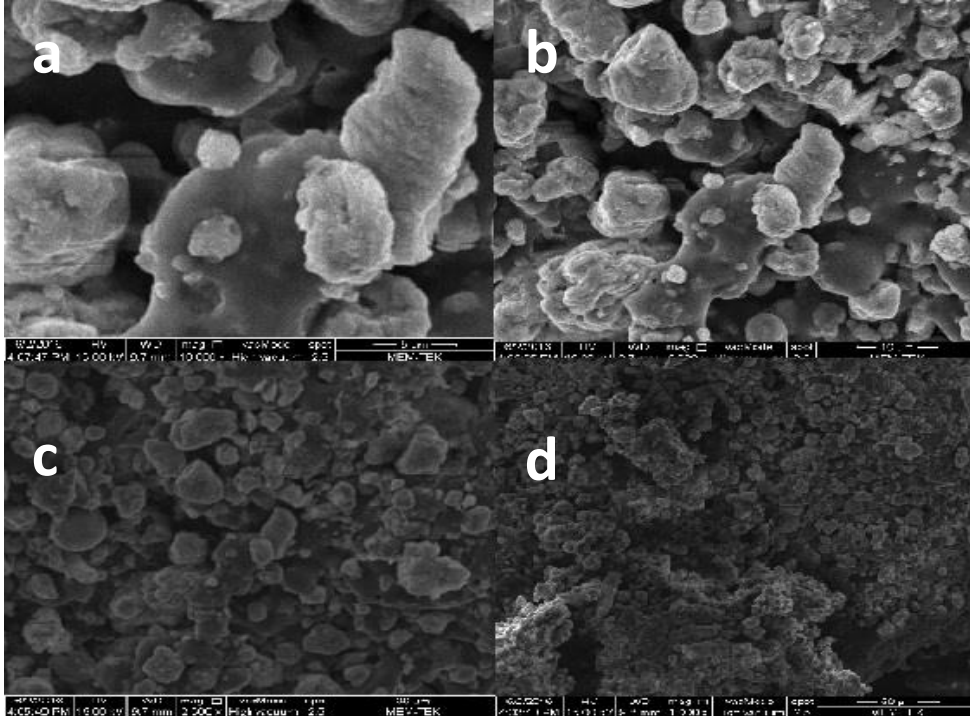


Şekil 6.19: %2 GA HAp-GEL 1:1 SEM analizi sonuçları. (a)40000, b)10000, c)8000, d)5000 büyütme)

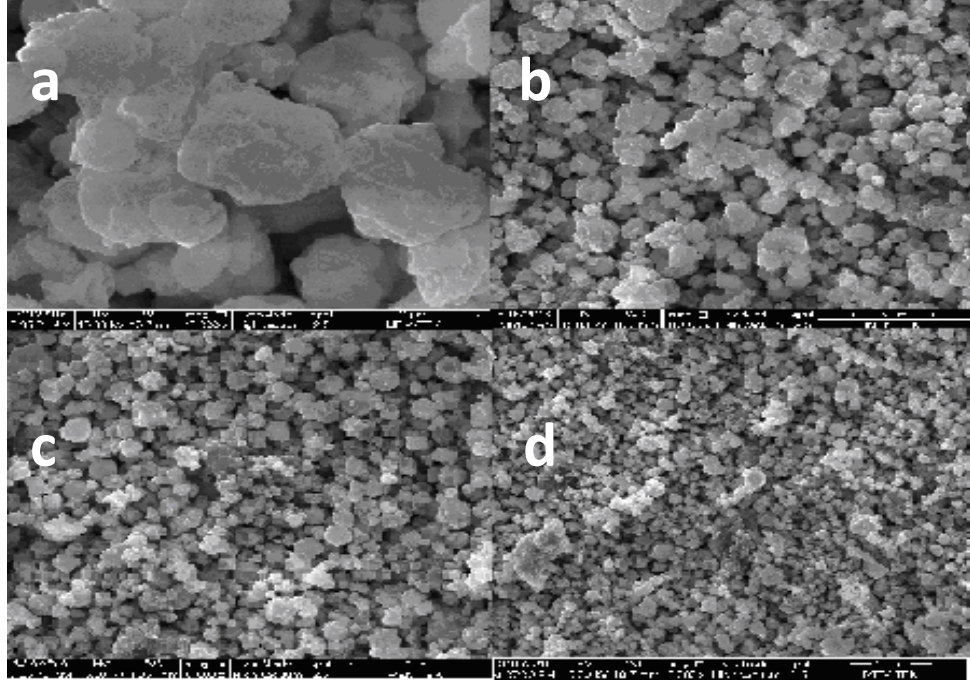
edildiği bilinmektedir [31]. Şekil 6.21’de a ve b’ye bakıldığında, düşük jelatin içeren kompozitin yüzeyinin daha pürüzlü olduğu görülmektedir. Püskürtmeli kurutucu ile elde edilen 5-FU yüklü HAp mikrokürelerinin gözenekli ve pürüzlü bir yapıya sahip olduğu raporlanmıştır [28]. Bu nedenle, pürüzlülüğün azalması artan polimer konsantrasyonu ile açıklanabilir.



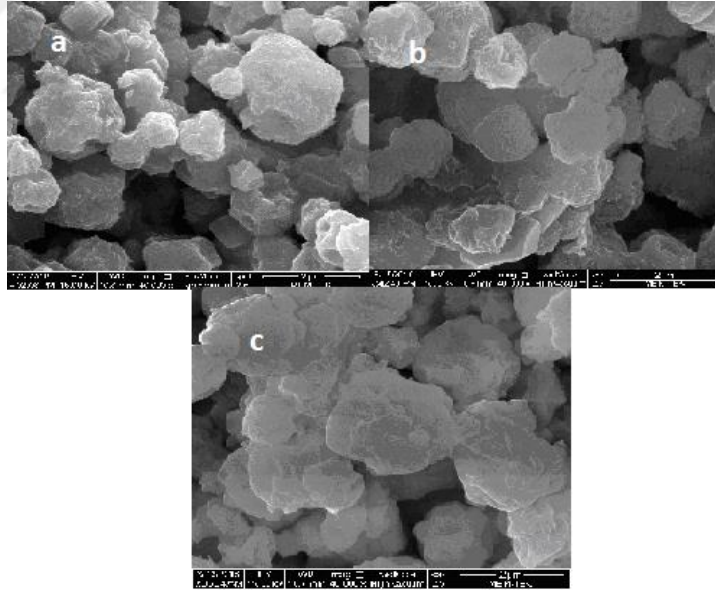
Şekil 6.20: %2 GA HAP-GEL 1:2 SEM analizi sonuçları. (a)40000, b)10000, c)8000, d)5000 büyütme)



Şekil 6.21: %2 GA HAP-GEL 1:4 SEM analizi sonuçları. (a)40000, b)10000, c)8000, d)5000 büyütme)



Şekil 6.22: %5 GA HAp-GEL 1:1 SEM analizi sonuçları. (a)40000, b)10000, c)8000, d)5000 büyütme)



Şekil 6.23: Farklı glutaraldehit ve jelatin oranlarına sahip HAp-GEL kompozitlerinin SEM analizi. (40000 büyütme)

Şekil 6.23'te a ve c'ye bakıldığında glutaraldehit miktarı artırıldığında da daha pürüzsüz yüzeyli mikroküreler olduğu anlaşılmaktadır. Bunun sebebi, artan çapraz bağlama ajanı miktarı etkisi ile daha yüksek oranda jelatinin yapıda tutulması ile ilişkilendirilebilir.

6.2.2. İlaç yükleme verimi ölçüm sonuçları

6.2.2.1. Absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenen kompozit verimleri

Absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenen HAp-GEL kompozitlerine ait ilaç yükleme verimleri Çizelge 6.6'da verilmiştir. İlaç yükleme verimlerinin her üç kompozit için de asidik ortamda daha yüksek olduğu görülmüştür. %2 GA ile çaprazlanan kompozitler içerisinde HAp-GEL 1:2 kompozitinin her ortamda en yüksek verime ve HAp-GEL 1:4 kompozitinin en düşük verime sahip olduğu görülmektedir. Gluteraldehit miktarı arttıkça, ilaç yükleme verimi de artmıştır.

Çizelge 6.6: Absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenen kompozit verimleri.

Kompozit	SU (%)	HCl (%)	PBS (%)
%2 GA HAp-GEL 1:1	2,82	5,16	2,37
%2 GA HAp-GEL 1:2	3,88	7,79	3,05
%2 GA HAp-GEL 1:4	2,49	3,51	2,26
%5 GA HAp-GEL 1:1	3,75	6,01	3,62

6.2.2.2. Püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklenen kompozit verimleri

Püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklenen HAp-GEL kompozitlerine ait ilaç yükleme verimleri Çizelge 6.7'de verilmiştir. Kompozitlerin ilaç yükleme verimlerinin su ortamında en yüksek olduğu görülmektedir. Asidik HCl ortamında PBS ortamından daha yüksek verimler elde edilmiştir. Absorpsiyon yönteminde olduğu gibi, %2 GA ile çaprazlanan kompozitlerde en yüksek ilaç yükleme verimi HAp-GEL 1:2'de görülürken, en düşük verimler HAp-GEL 1:4 kompozitinde görülmüştür. Gluteraldehit miktarı arttıkça da ilaç yükleme verimleri artmıştır.

Çizelge 6.7: HAp-GEL kompozitlerine ait ilaç yükleme verimleri.

Kompozit	SU (%)	HCl (%)	PBS (%)
%2 GA HAp-GEL 1:1	308,01	264,73	215,00
%2 GA HAp-GEL 1:2	428,26	399,67	278,00
%2 GA HAp-GEL 1:4	175,67	178,80	166,70
%5 GA HAp-GEL 1:1	379,25	308,01	307,50

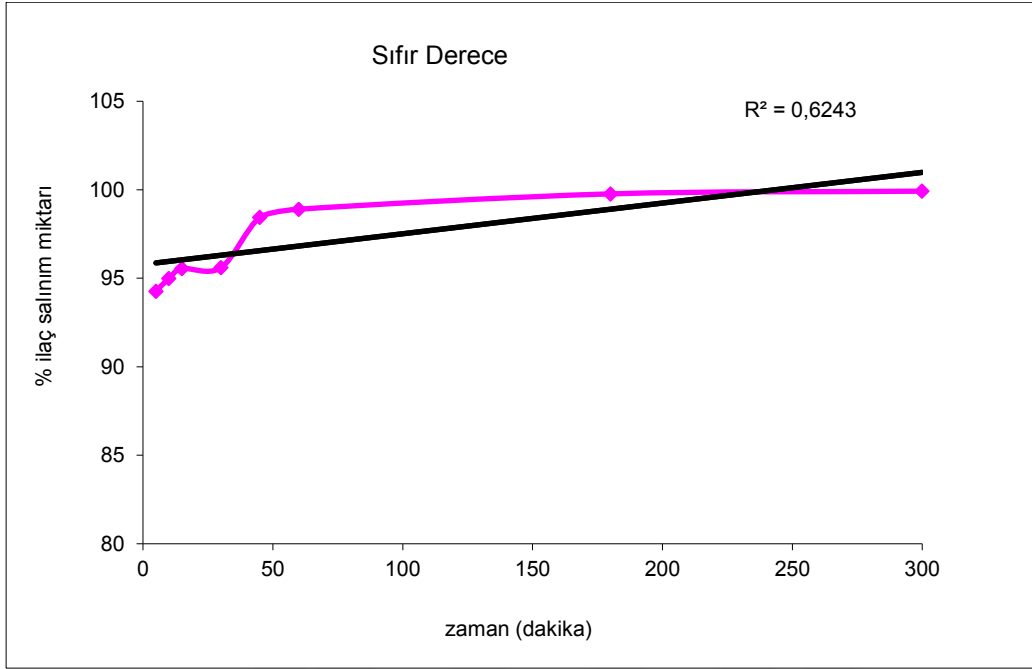
Çizelge 6.7'ye bakıldığında ilaç yükleme verimlerinin %100'den fazla olduğu görülmektedir. Denklem 5.1'e göre yapılan hesaplamalarda, kompozitlerde ölçülen ilaç miktarının teorik olarak yüklenen maksimum ilaç miktardan daha fazla olması mümkün değildir. Bu nedenle, elde edilen yüksek ilaç verimleri ilacın çözünürlüğünde gerçekleşen değişim ile açıklanabilir. Kavitha ve arkadaşları, su içerisindeki çözünürlüğü düşük olan 5-FU'nun, β -siklodekstrin ile kompleks oluşturması durumunda daha yüksek çözünürlüğe sahip hale geldiği sonucuna ulaşmışlardır. Su içerisinde 5-FU çözünürlüğü 12.1 mg/ml olarak belirlenirken, donmalı kurutucu ile elde edilen 5-FU- β -siklodekstrin kompleksinde 35,1 mg/ml olarak belirlenmiş, çözünürlüğün yaklaşık olarak üç katına çıkacak şekilde iyileştiği gözlenmiştir [43]. Bir başka çalışmada, Panizzon ve arkadaşları püskürtmeli kurutucu ile soya izoflavon yüklü jelatin mikroküreleri üreterek soya izoflavonun çözünürlük değişimini incelemişlerdir. Yapılan *in vitro* salınım çalışmalarında, jelatin içerisine yüklü soya izoflavon çözünürlüğünün daha yüksek olduğu belirlenmiştir. XRD analizlerine bakıldığında, jelatin içerisinde kristal yapıdan amorf yapıya geçen soya izoflavonun amorf yapısından dolayı çözünürlüğünün iyileştiği sonucuna varılmıştır [44]. Tummala ve arkadaşlarının 5-FU yüklü kitosan nanoparçacıkları ile yaptıkları çalışmada ise, XRD analizleri sonucunda ilacın nanoparçacıklar içerisinde amorf fazda bulunduğu görülmüştür [45]. Bu çalışmalardan yola çıkarak, bizim çalışmamızda da 5-FU'nun kompozitler içerisinde jelatin ve püskürtmeli kurutucu etkisi ile amorf fazda bulunduğu, dolayısı ile çözünürlüğünün iyileştiği sonucuna varılabilir. Çizelge 6.7'de verilen ilaç yükleme verimi hesaplamalarında, 5-FU/su, 5-FU/HCl ve 5-FU/PBS çözeltileri ile hazırlanan kalibrasyon eğrileri kullanılmıştır. 5-FU'nun su, HCl ve PBS içerisinde kompozitler içerisindeki haline kıyasla daha düşük çözünürlüğe sahip olması söz konusu ise, elde edilen yüksek verimler çözünürlük farkı ile açıklanabilir.

6.2.3. İlaç yüklü HAp-GEL kompozitlerin salım profilleri

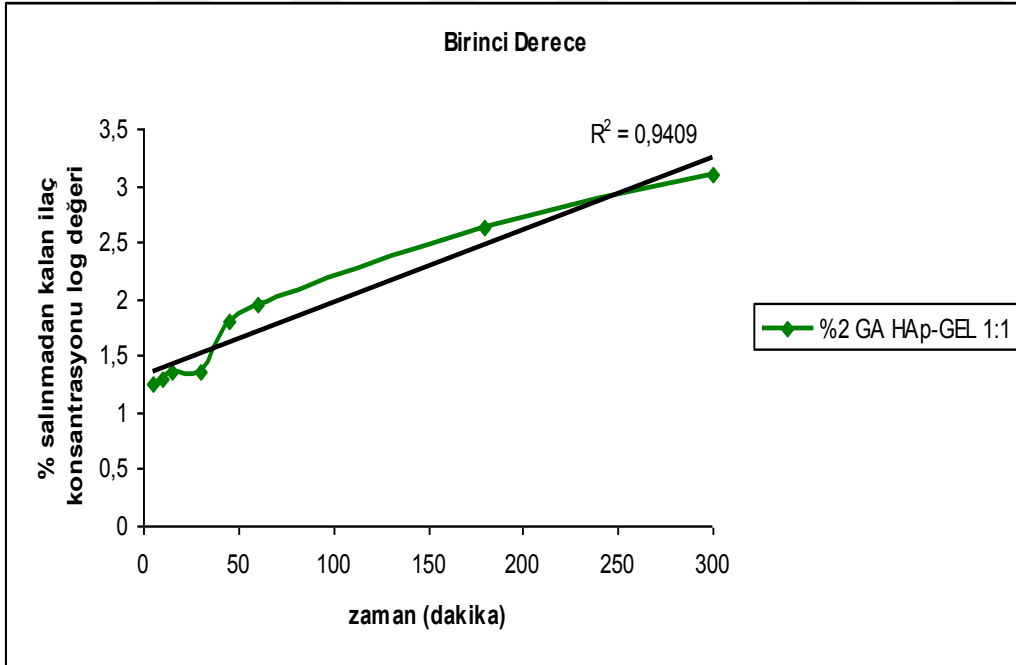
Püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklenen HAp- GEL kompozitlerinin salım profilleri dört farklı kinetik modele göre elde edilmiştir.

Şekil 6.24, Şekil 6.25, Şekil 6.26 ve Şekil 6.27'de, %2 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin Sıfır Derece, Birinci Derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine göre salım profilleri verilmiştir. %2 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin

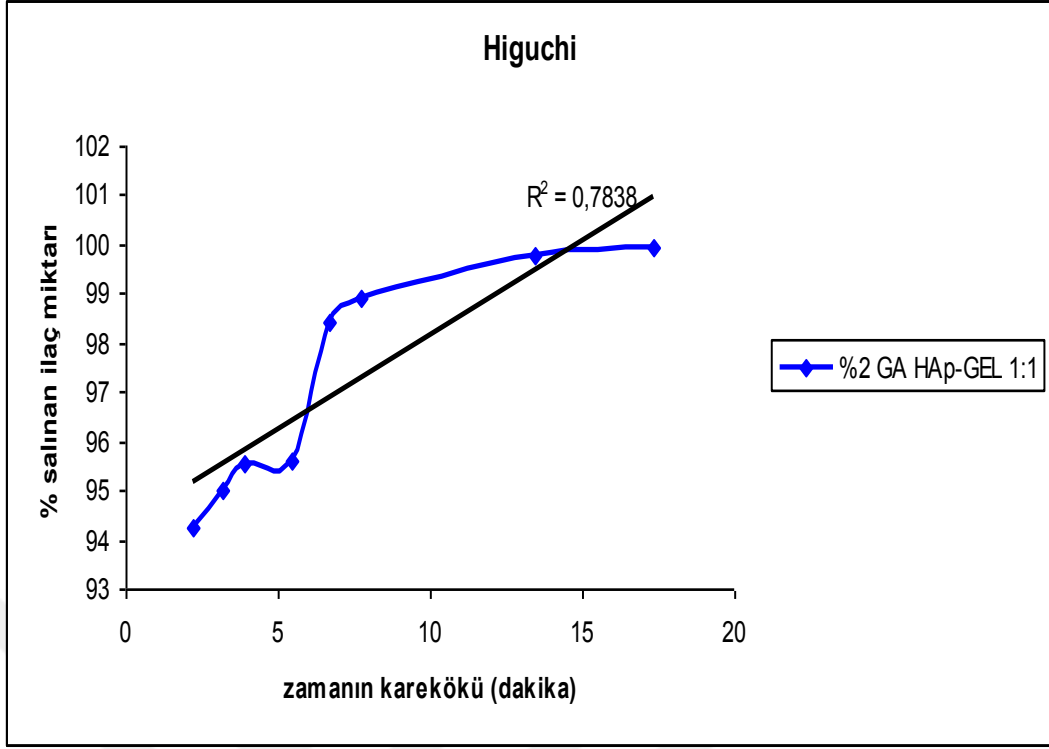
salım profilleri arasında en yüksek regresyon değerinin Birinci Derece kinetik modelde elde edildiği görülmektedir.



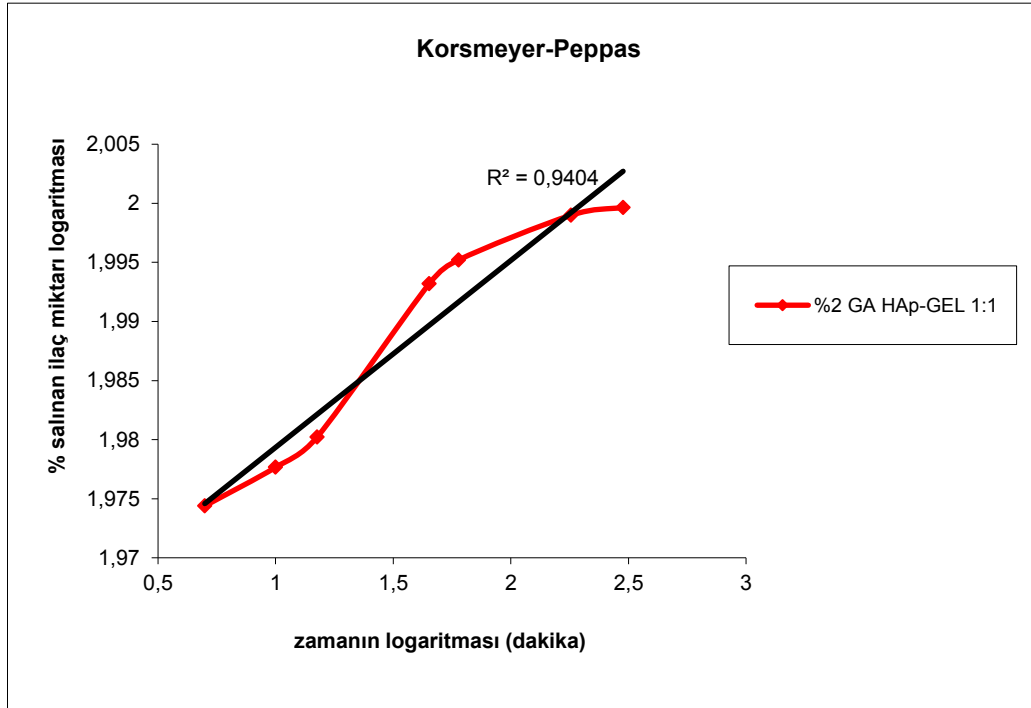
Şekil 6.24: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HA_p-GEL 1:1 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili.



Şekil 6.25: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HA_p-GEL 1:1 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili.

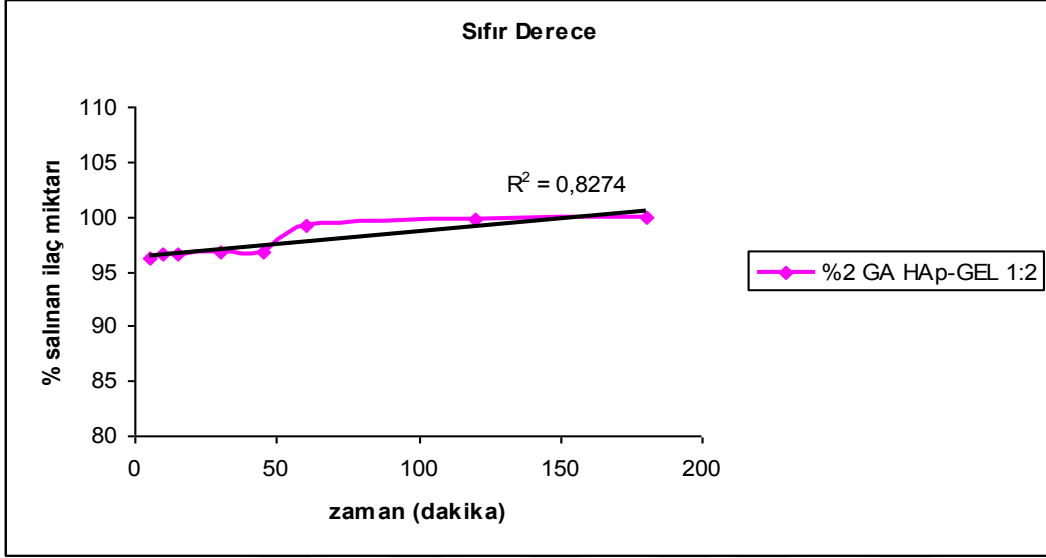


Şekil 6.26: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.

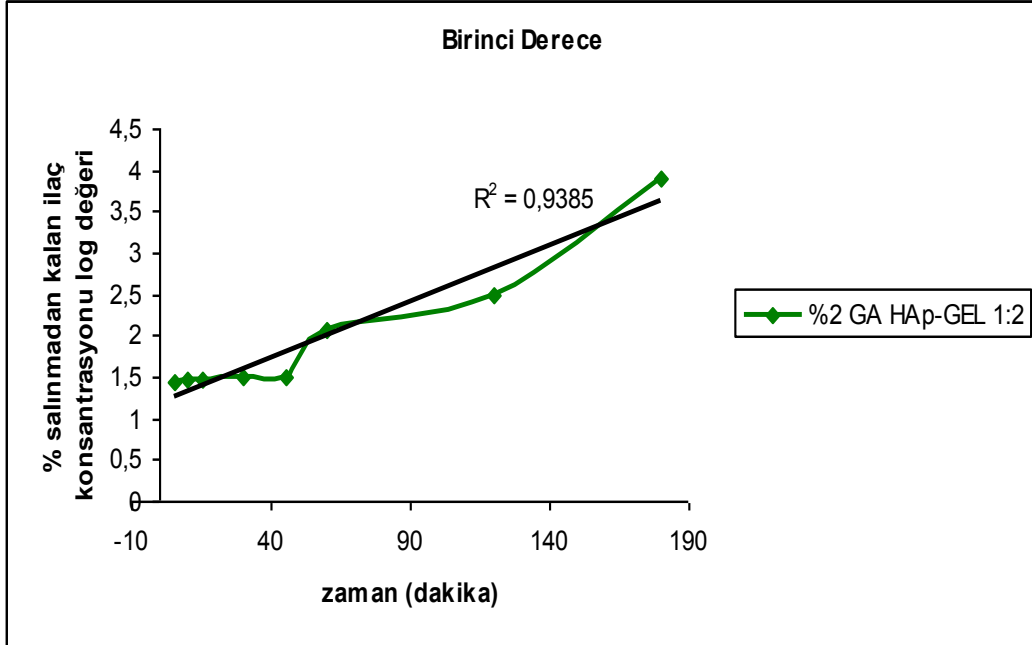


Şekil 6.27: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.

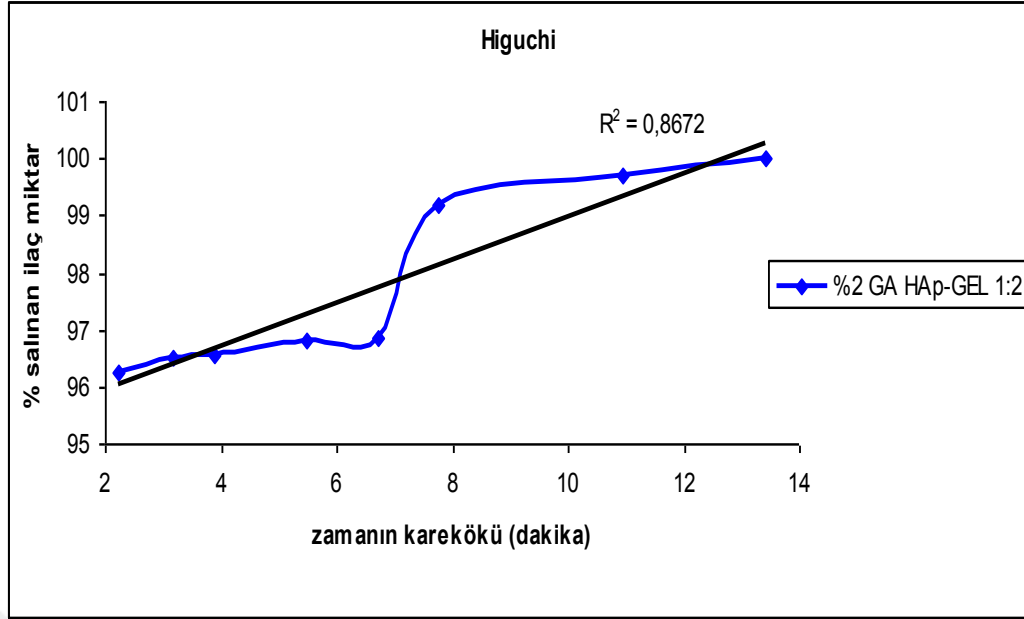
Şekil 6.28, Şekil 6.29, Şekil 6.30 ve Şekil 6.31’de, %2 GA HAp-GEL 1:2 kompozitinin Sıfır Derece, Birinci Derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine göre salım profilleri görülmektedir. %2 GA HAp-GEL 1:2 kompozitinin salım profilleri arasında en yüksek regresyon değerinin Birinci Derece kinetik modelde elde edildiği görülmektedir.



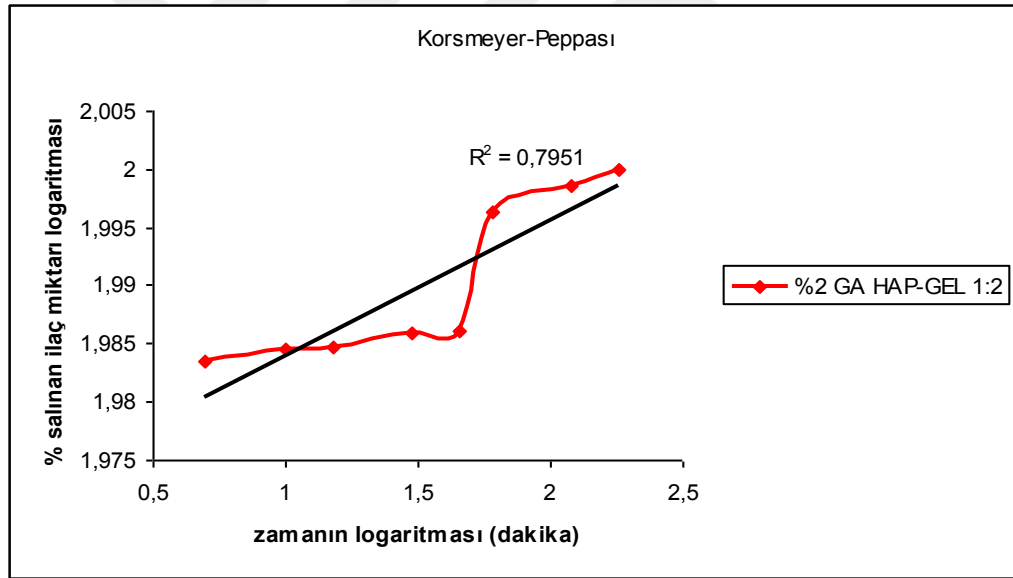
Şekil 6.28: %2’lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili.



Şekil 6.29: %2’lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili.

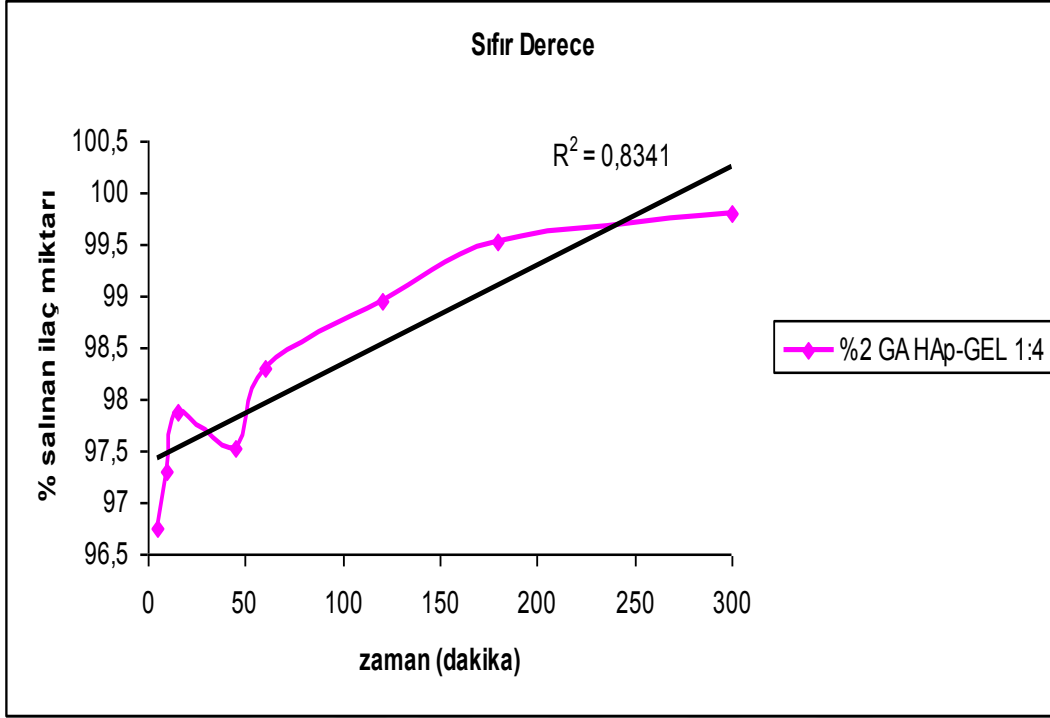


Şekil 6.30: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.

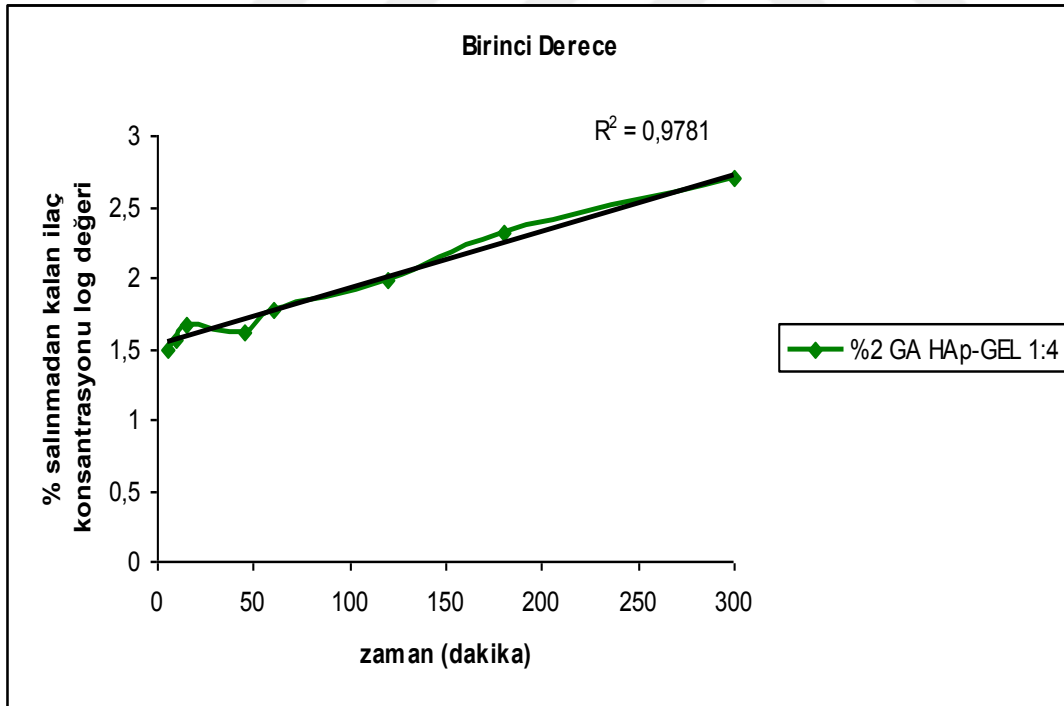


Şekil 6.31: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:2 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.

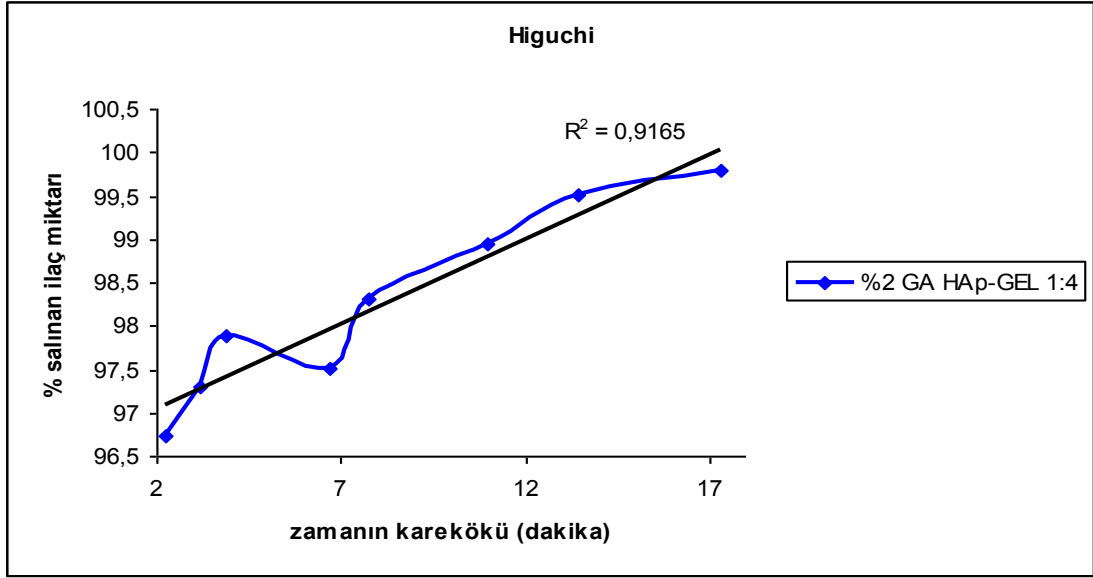
Şekil 6.32, Şekil 6.33, Şekil 6.34 ve Şekil 6.35'te, %2 GA HAp-GEL 1:4 kompozitinin Sıfır Derece, Birinci Derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine göre salım profilleri görülmektedir. %2 GA HAp-GEL 1:4 kompozitinin salım profilleri arasında en yüksek regresyon değerinin Birinci Derece kinetik modelde elde edildiği görülmektedir.



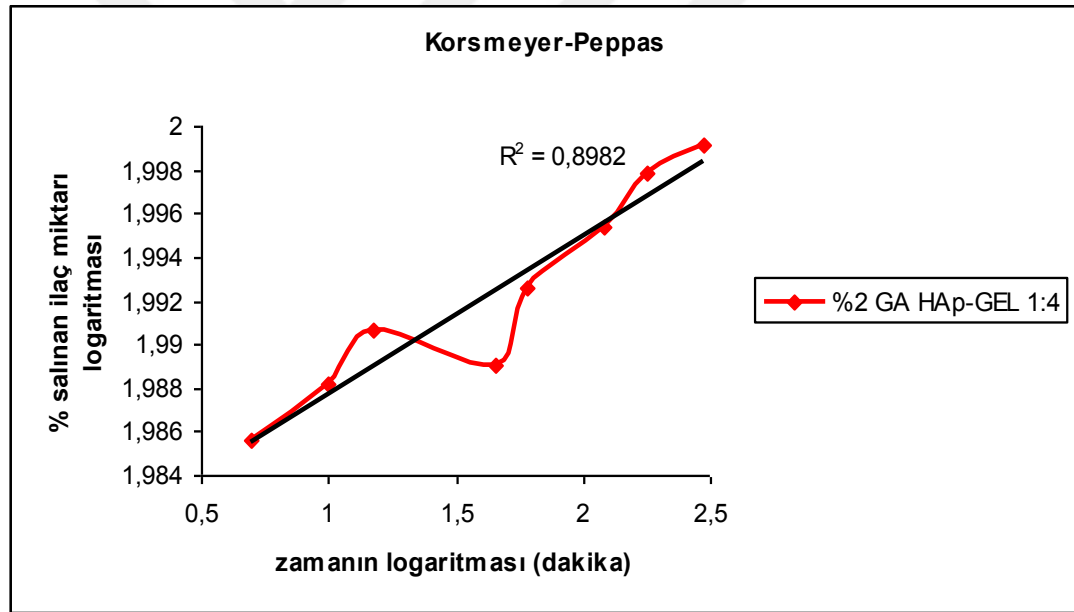
Şekil 6.32: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili.



Şekil 6.33: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili.

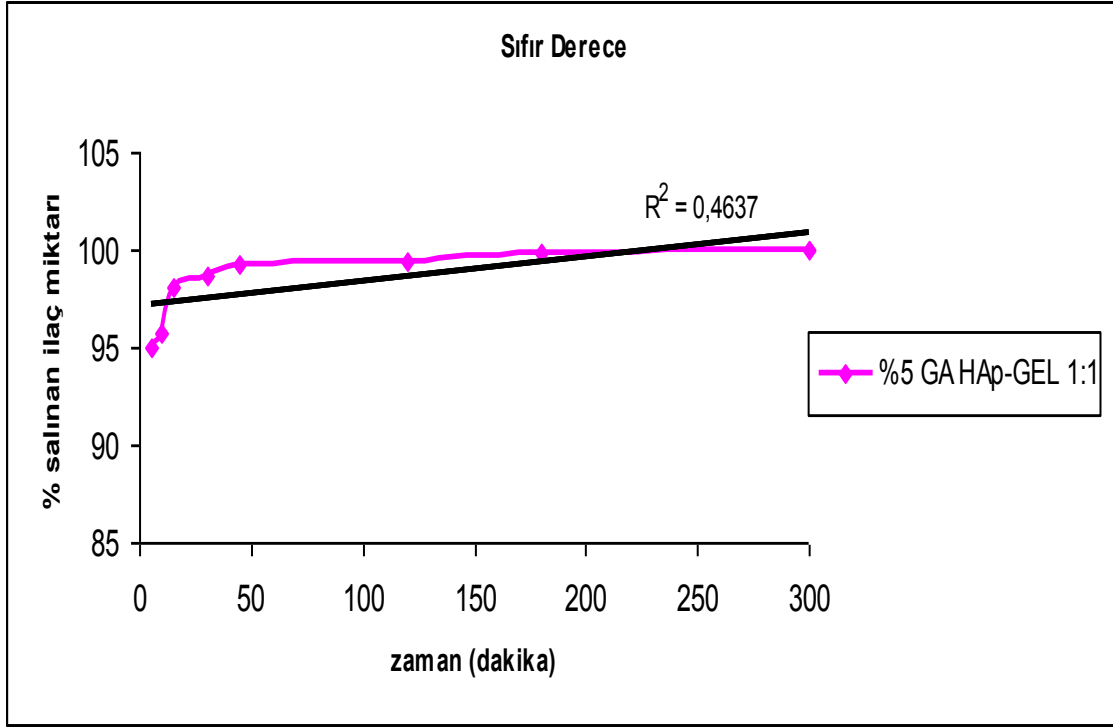


Şekil 6.34: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.

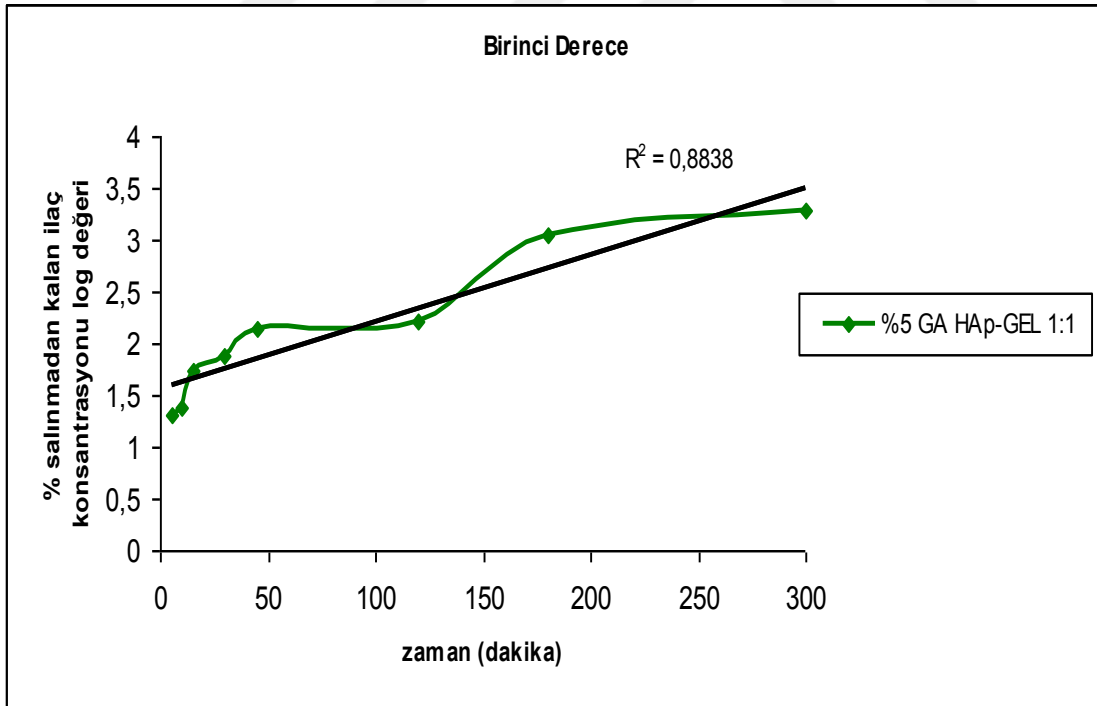


Şekil 6.35: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:4 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.

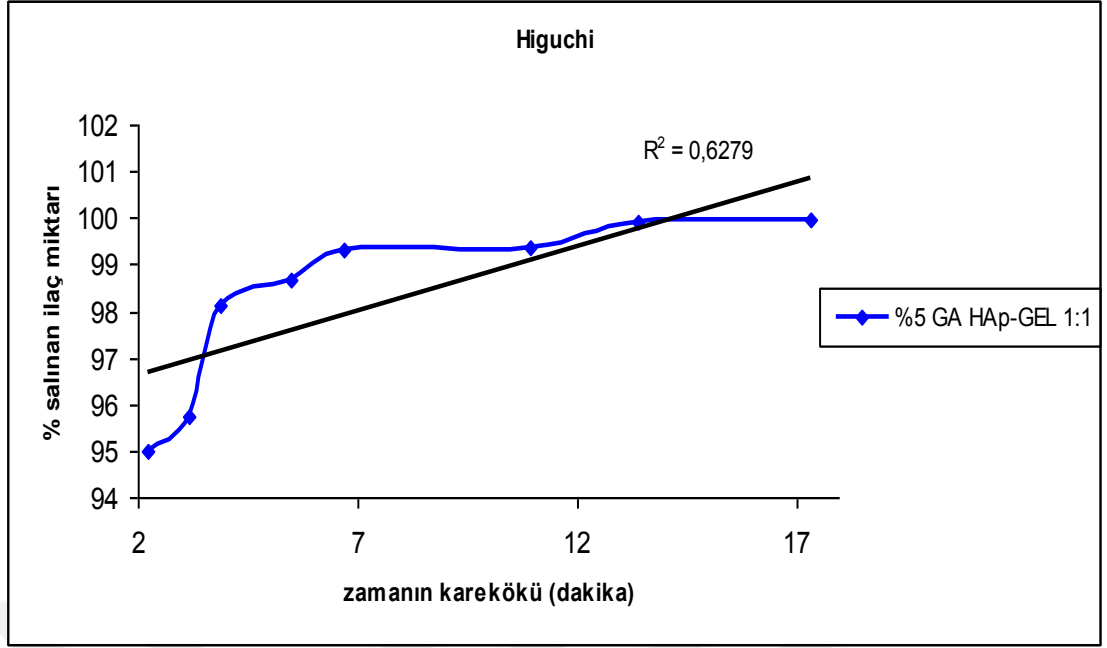
Şekil 6.36, Şekil 6.37, Şekil 6.38 ve Şekil 6.39'da, %5 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin Sıfır Derece, Birinci Derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine göre salım profilleri verilmiştir. %5 GA HAp-GEL 1:1 kompozitinin salım profilleri arasında en yüksek regresyon değerinin Birinci Derece kinetik modelde elde edildiği görülmektedir.



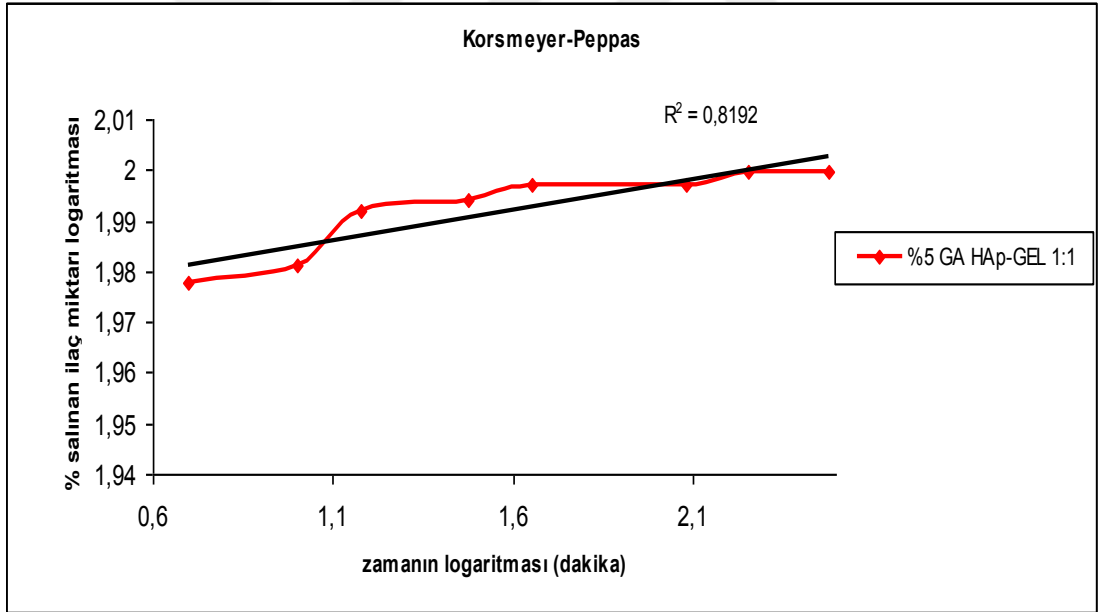
Şekil 6.36: %5'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin sıfır derece kinetik modele göre salım profili.



Şekil 6.37: %5'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin birinci derece kinetik modele göre salım profili.



Şekil 6.38: %5'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Higuchi kinetik modeline göre salım profili.



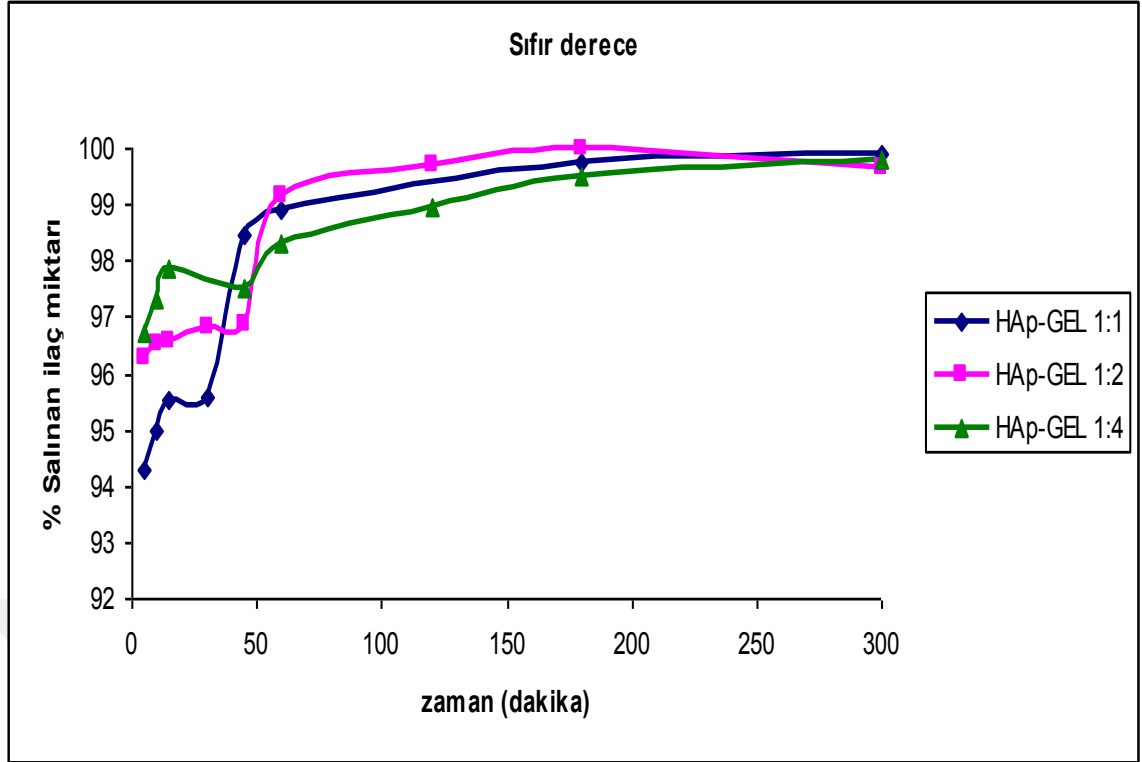
Şekil 6.39: %5'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profili.

Çizelge 6.8'de HAp-GEL kompozitlerine ait hesaplanmış kinetik model parametreleri görülmektedir. Tüm kompozitlerde, birinci derece kinetik modele ait regresyon R^2 değerleri en yüksek çıkmıştır. Bu nedenle, kompozitlerin birinci derece salım kinetiğini takip ettiği sonucuna varılmıştır.

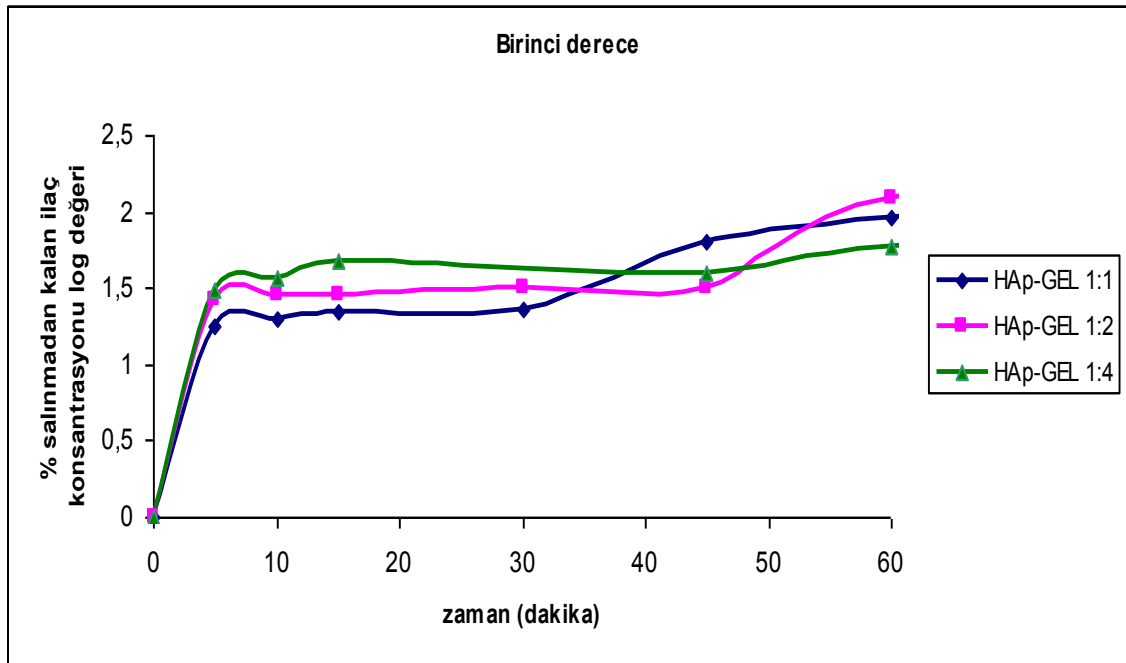
Şekil 6.40, Şekil 6.41, Şekil 6.42 ve Şekil 6.43'te %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin Sıfır Derece, Birinci Derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine göre karşılaştırmalı salım profilleri görülmektedir.

Çizelge 6.8: Kinetik model parametreleri.

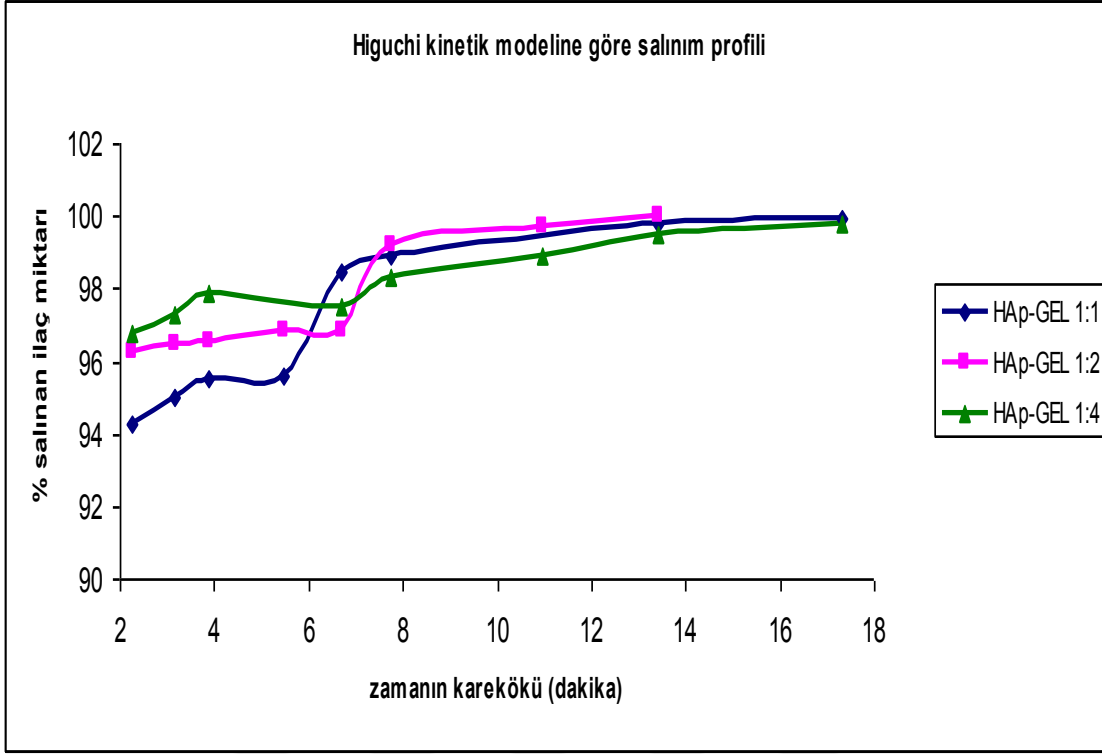
Kinetik Model	Parametre	Kompozit			
		%2 GA HAp-GEL 1:1	%2 GA HAp-GEL 1:2	%2 GA HAp-GEL 1:4	%5 GA HAp-GEL 1:1
Sıfır Derece	K_0	0,0173	0,0234	0,0096	0,0122
	R^2	0,6243	0,8274	0,8341	0,4637
Birinci Derece	K	0,0147	0,0313	0,0092	0,0150
	R^2	0,9409	0,9385	0,9781	0,8838
Higuchi	K_H	0,3859	0,3796	0,1952	0,2762
	R^2	0,7838	0,8672	0,9165	0,6279
Korsmeyer-Peppas	K	1,9624	1,9722	1,9938	1,973
	R^2	0,8961	0,7951	0,8982	0,8192
	n	0,016	0,0117	0,0072	0,0121



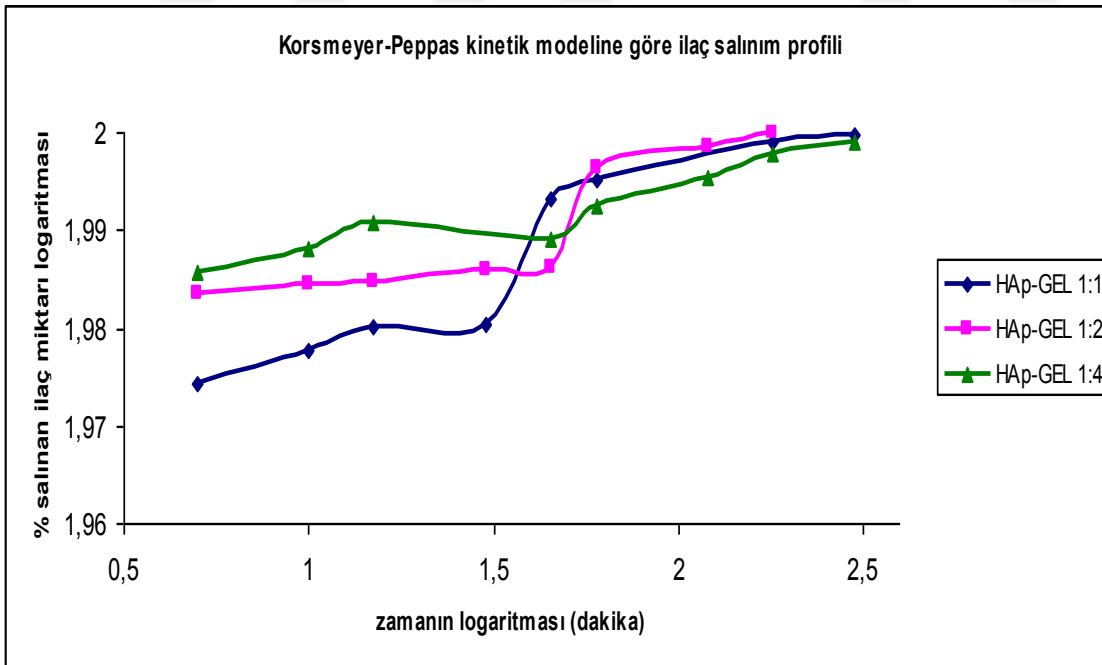
Şekil 6.40: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin sıfır derece kinetik modele göre salım profilleri.



Şekil 6.41: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin birinci derece kinetik modele göre salım profilleri.



Şekil 6.42: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin Higuchi kinetik modeline göre salım profilleri.



Şekil 6.43: %2'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1, HAp-GEL 1:2 ve HAp-GEL 1:4 kompozitlerinin Korsmeyer-Peppas kinetik modeline göre salım profilleri.

Şekil 6.41’da görüldüğü gibi, tüm kompozitlerde iki fazlı salım profili görülmüştür. Kompozitlerdeki jelatin oranı arttıkça ilk ani salım oranı artmıştır. İlk ani salım öncelikli olarak 5-FU difüzyonu tarafından kontrol edilmekte ve genellikle mikroküre yüzeyine bağlı ve yakın bulunan ilaç moleküllerinden kaynaklanmaktadır [9]. Lin ve arkadaşları, 5-FU yüklü HAp-PLGA kompozitleri ile yaptıkları çalışmada polimer oranı artışı ile artan ani salımı 5-FU ve HAp’ın polar yapısı ile açıklamışlardır. Püskürtmeli kurutucu ile HAp-GEL numunelerinin 5-FU yüklenmesi sırasında çözücü olarak kullanılan su, polar yapıdaki HAp ve 5-FU moleküllerinin yüzeyde toplanmasına sebep olmuş olabilir. Bu durumda, daha fazla HAp molekülü içeren kompozitlerde yüzeye yakın bulunan 5-FU moleküllerinin bir kısmının yerini HAp molekülleri almıştır. Dolayısı ile, daha az jelatin içeren kompozitlerde ilk ani salım oranı azalmıştır. İlacın vücut içerisindeki salımı sırasında gerçekleşen ani salımların yan etkilere sebep olduğu ve ilacın etkinliğini azalttığı bilinmektedir [9]. Bu nedenle, düşük jelatin içeren kompozitlerin ilaç taşıyıcı olarak kullanıma daha uygun olduğu yorumu yapılabilir.

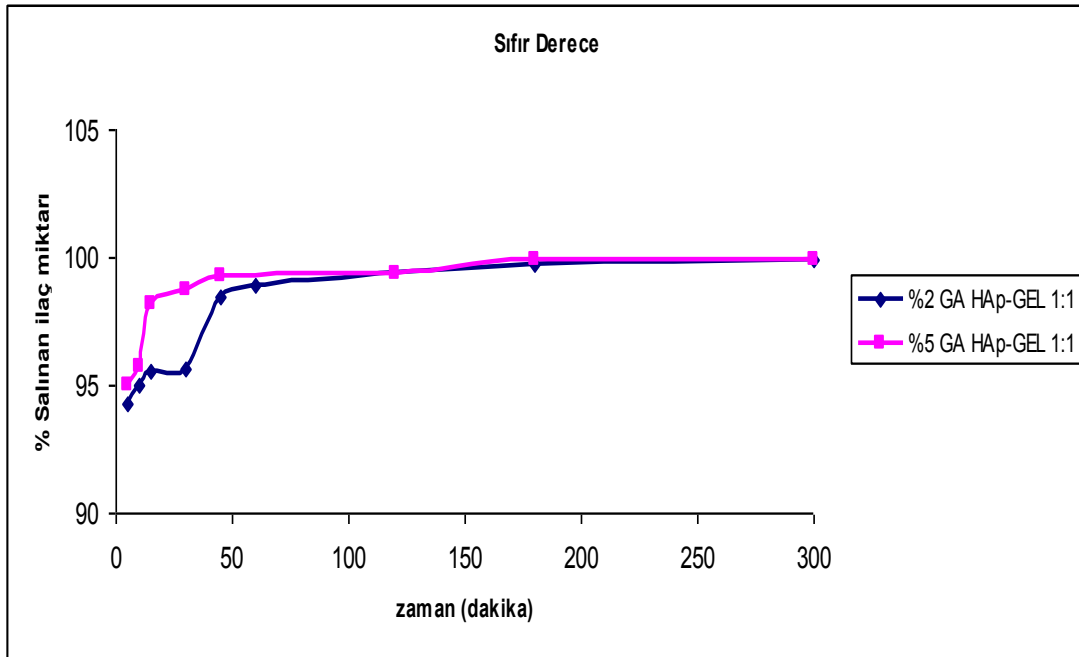
Şekil 6.41’a bakıldığında, ilk ani salımın jelatin oranı arttıkça arttığı görülürken, toplamda salım hızının jelatin oranı azaldıkça arttığı görülmektedir. Çizelge 6.9’da HAp-GEL kompozitleri salım hızları verilmiştir. Salım mekanizmasının, PBS sıvısının mikrokürecik gözenekleri içerisine absorpsiyonu, ilacın sıvı içerisinde çözünmesi ve sıvının gözeneklerden ilaç ile beraber salınması şeklinde gerçekleştiği düşünülmektedir [37]. Jelatin oranının azalması ile, yani HAp oranı artması ile salım hızının artması, HAp’ın gözenekli yapısının mikroküreler içerisine sıvı girişini artırması ve polimer bozunmasını hızlandırması ile açıklanabilir [9]. Bununla birlikte, polar yapıdaki HAp moleküllerinin su moleküllerini mikroküreler içerisine çektiği ve tutulan su miktarı ile beraber polimer bozunma hızını arttırdığı yorumu yapılabilir.

Çizelge 6.9: HAp- GEL kompozitleri ilaç salım hızları.

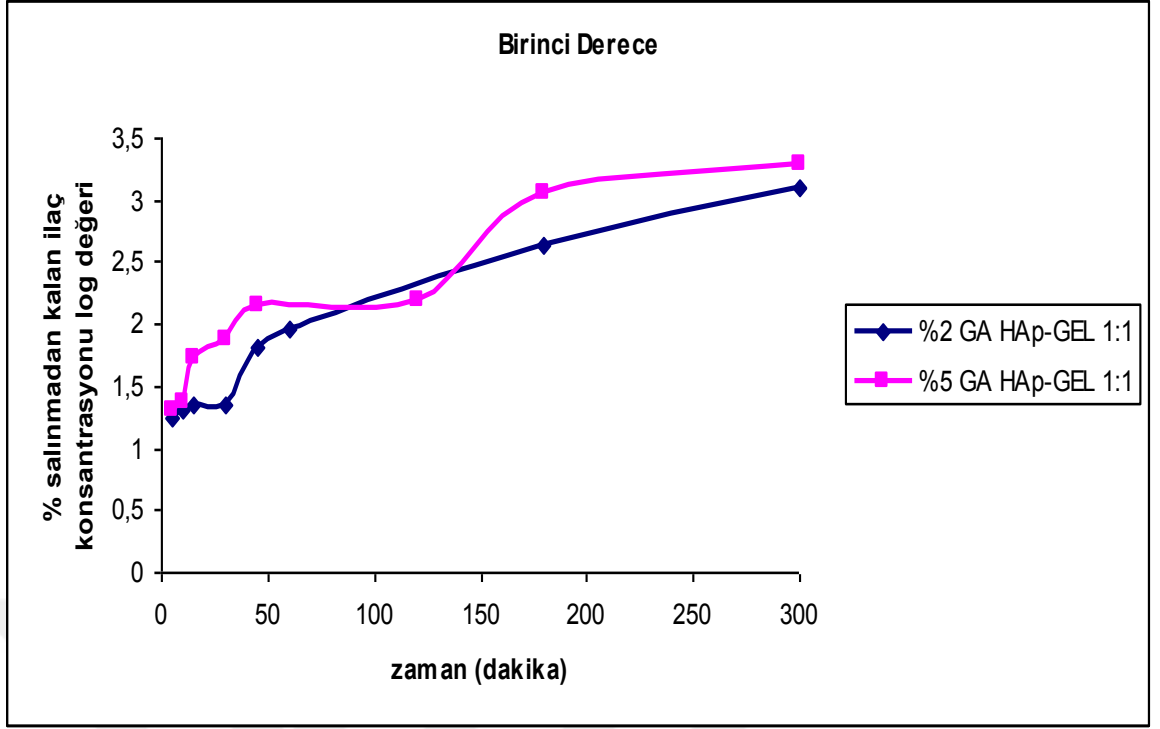
Kompozit	Salım hızı (%salım/saat)
%2 GA HAp-GEL 1:1	1,35
%2 GA HAp-GEL 1:2	0,89
%2 GA HAp-GEL 1:4	0,73
%5 GA HAp-GEL 1:1	1,19

Şekil 6.44, Şekil 6.45, Şekil 6.46 ve Şekil 6.47’de %5 ve %2’lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin Sıfır Derece, Birinci Derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine göre karşılaştırmalı salım profilleri görülmektedir.

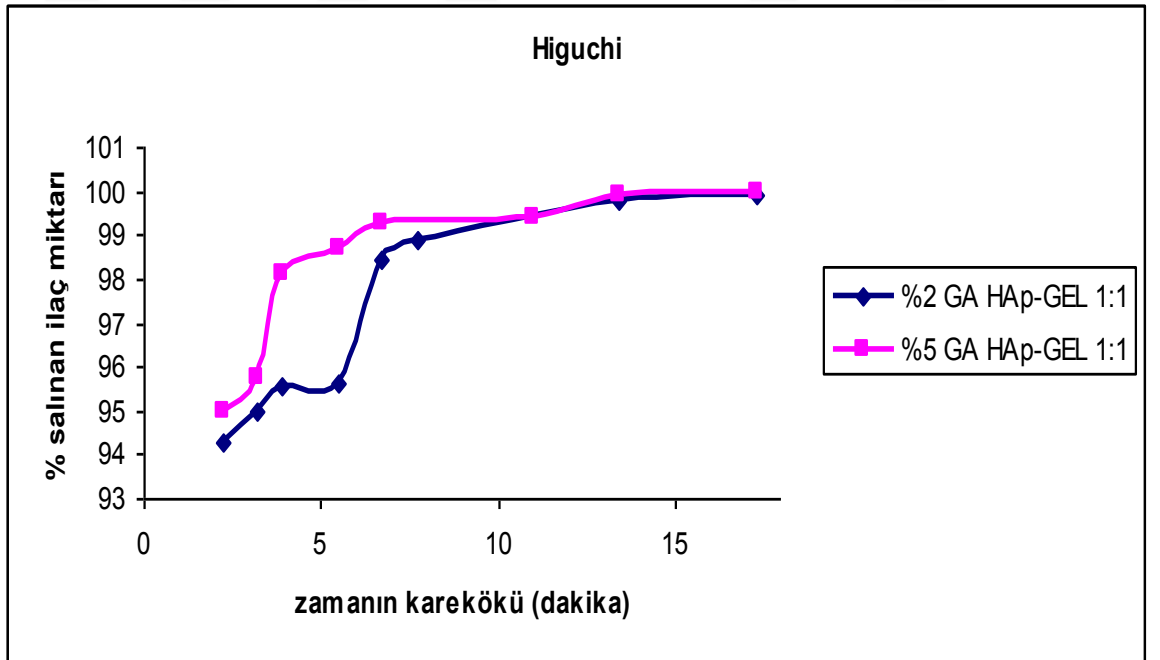
Şekil 6.45’te görüldüğü gibi, HAp-GEL kompozitlerindeki çapraz bağlama ajanı oranı arttırıldığında ilk ani salım oranı artmıştır. Peng ve arkadaşları ile Zhou ve arkadaşları çapraz bağlama ajanı artışı ile ilk ani salım oranının azaldığını raporlamışlardır. Bu durum, çaprazlama ajanı ile bağları kuvvetlendirilen jelatin matrisi içerisinde salınan ilacın azalması ile açıklanmıştır. Ancak bahsedilen çalışmalar yalnızca ilaç yüklü polimerleri incelemektedir. Bu çalışmada kompozitlerin 5-FU ile yüklenmesi çapraz bağlama işlemi sonrasında gerçekleştirildiği için, gluteraldehitin kompozitlerde tutulan jelatin miktarı üzerine etkisi söz konusu olmuştur. TGA analizleri sonucunda, %2’lik ve %5’lik gluteraldehit çözeltisi ile teorik olarak aynı HAp-GEL oranlarında hazırlanan numunelerde farklı jelatin oranları olduğu görülmüştür. Bu nedenle jelatin artışının ilk ani salım üzerindeki etkisinin gluteraldehit etkisinden üstün gelmiş olduğu yorumu yapılabilir.



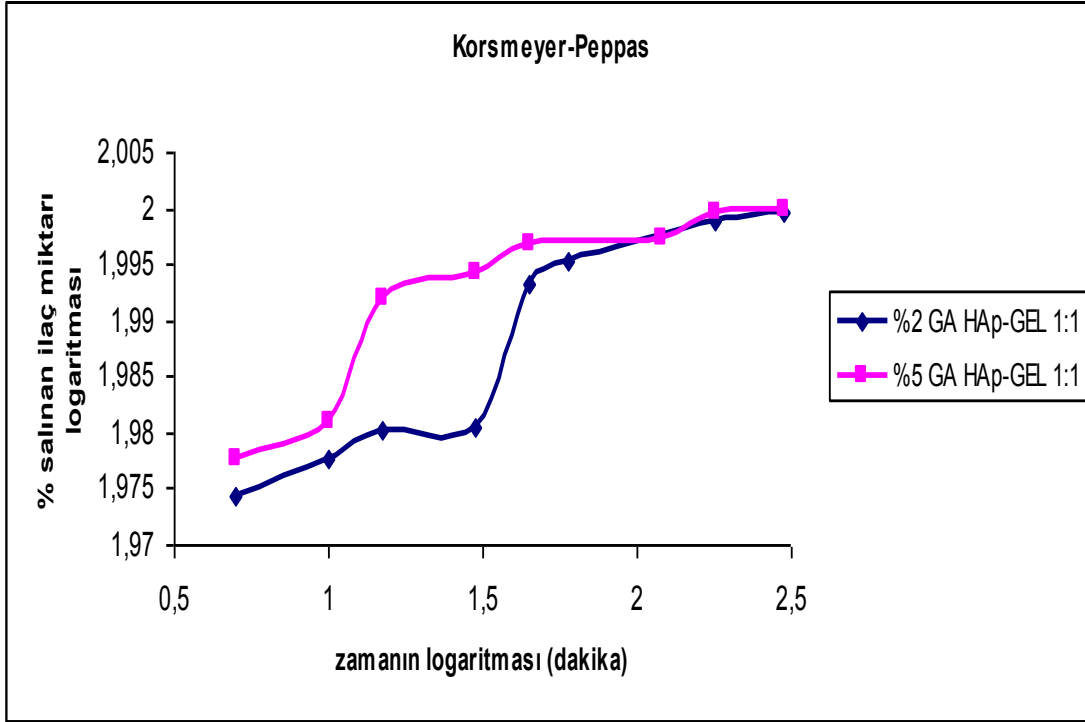
Şekil 6.44: %2’lik ve %5’lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin sıfır derece kinetik modele göre salım profilleri.



Şekil 6.45: %2'lik ve %5'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin birinci derece kinetik modele göre salım profilleri.



Şekil 6.46: %2'lik ve %5'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HAp-GEL 1:1 kompozitlerinin Higuchi kinetik modele göre salım profilleri.



Şekil 6.47: %2'lik ve %5'lik gluteraldehit ile çaprazlanmış HA ρ -GEL 1:1 kompozitlerinin Korsmeyer-Peppas kinetik modele göre salım profilleri.

7. VARGILAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, farklı oranlarda jelatin içeren HAp-GEL kompozitleri üretimi, bu kompozitlere 5-FU yüklenmesi ve ilaç salım profillerinin incelenmesi amaçlanmıştır. İlaç yükleme işlemi püskürtmeli kurutucu ile gerçekleştirilmiştir.

Farklı jelatin miktarlarının ilaç salımı üzerine etkisini incelemek amacı ile ağırlıkça HAp/GEL oranı 1:1, 1:2 ve 1:4 olan üç adet HAp-GEL kompoziti hazırlanmıştır. Hazırlanan kompozitlerde çapraz bağlama ajanı olarak %2 gluteraldehit çözeltisi kullanılmıştır. Gluteraldehit miktarının ilaç salım profiline etkisini incelemek amacı ile, HAp/GEL oranı 1:1 olan ve %5 gluteraldehit çözeltisi ile çaprazlanmış HAp-GEL kompoziti üretilmiştir.

Püskürtmeli kurutucu dışında, absorpsiyon yöntemi ile ilaç yüklenmesi yapılarak ilaç yükleme verimleri karşılaştırılmıştır. İlaç salım profillerinin en yakın olduğu modeli belirlemek amacı ile sıfır derece, birinci derece, Higuchi ve Korsmeyer-Peppas olmak üzere dört farklı kinetik model ile salım profili oluşturulmuştur.

Yaş çöktürme yöntemi ile elde edilen HAp-GEL kompozitlerinin TGA analizleri sonucunda artan jelatin oranlarında kompozitler elde edildiği doğrulanmıştır. Gluteraldehit miktarı arttıkça, kompozitlerde tutulan jelatin oranının arttığı ve teorik olarak hedeflenen HAp/GEL oranına daha çok yaklaşıldığı görülmüştür. FTIR sanaliziyle HAp oluşumu ve hidroksiapatit ile jelatin arasındaki organik-inorganik etkileşim doğrulanmıştır. İlaç yüklü numunelere ait FTIR analizlerinde 5-FU karakteristik pikleri tespit edilerek, püskürtmeli kurutucu ile ilaç yükleme işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiği doğrulanmıştır. SEM analizi sonucunda püskürtmeli kurutucu ile amaçlandığı şekilde ilaç yüklü HAp-GEL mikroküreleri elde edildiği görülmüştür. Düzenli bir partikül boyutu dağılımı olmamakla beraber her üç kompozit için de partikül boyutlarının 2-5µm arasında değiştiği belirlenmiştir. EDS analizi sonucunda kompozitlerde görülen Ca/P oranının stokiometrik HAp oranından farklı olduğu, 1,49 ile 1,91 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Absorpsiyon yöntemi ve püskürtmeli kurutucu ile ilaç yüklenen kompozitler karşılaştırıldığında, absorpsiyon yöntemi ile elde edilen ilaç yükleme verimlerinin çok düşük olduğu gözlemlenmiştir. Püskürtmeli kurutucu kullanımı ile çok daha etkili bir şekilde ilaç yüklemesi yapılabildiği sonucuna varılmıştır.

İlaç salınım çalışmaları sonucunda, kompozitlerde görülen ilk ani salımın jelatin miktarı arttıkça arttığı belirlenmiştir. İlk ani salımın olası yan etkilere sebep olması ve ilacın etkinliğini azaltması nedeni ile, kontrollü ilaç salımı için jelatin oranı az olan HAp-GEL kompozitlerinin daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, toplamda salım hızının yüksek jelatin miktarlarına sahip kompozitlerde daha düşük olduğu görülmüştür. HAp-GEL kompozitlerinin, çalışılan kinetik modeller arasında birinci derece kinetik modele en uygun olduğu belirlenmiştir. Gluteraldehit miktarı farklı olan HAp-GEL kompozitlerine bakıldığında, ilk ani salımın gluteraldehit miktarı ile beraber arttığı gözlemlenmiştir. Gluteraldehitin toksik yapısı da göz önüne alındığında, düşük guteraldehitli kompozitlerin ilaç salım uygulamalarında kullanıma daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Elde edilen HAp-GEL kompozitlerinin ilaç salımı uygulamalarında kullanılabileceği düşünülmektedir. *In vivo* çalışmalar ile bunun doğrulanması sağlanabilir. GA'nın ilaç salım performansı üzerindeki etkisinin daha iyi incelenmesi için farklı bir üretim yöntemi ile çalışılabilir. Farklı GA konsantrasyonları ve çapraz bağlama ajanları ile çalışılabilir. Farklı HAp/GEL oranları ve HAp-polimer kompozitleri ile çalışılabilir. Farklı ilaç yükleme miktarının salım üzerine etkisi ve farklı ilaç ile yüklü HAp-GEL kompozitlerinin salım performansı incelenebilir. 5-FU'nun farklı ortamlarda ve kompozit içerisindeki çözünürlüğü üzerine çalışmalar yapılarak ilaç yükleme verimi hesaplama çalışmaları tekrarlanabilir.

KAYNAKLAR

- [1] **Url-1** < <http://www.oncolink.org/treatment/article.cfm?c=143&id=172> >, erişim tarihi 10.04.2016.
- [2] **Olukman, M., Şanlı, O. ve Solak, E.K.** (2012). Release of anticancer drug 5-fluorouracil from different ionically crosslinked alginate beads, *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, **3**, 469-479.
- [3] **Ganguly, K., Aminabhavi, T. M. ve Kulkarni, A.R.** (2011). Colon targeting of 5-fluorouracil using polyethylene glycol cross-linked chitosan microspheres enteric coated with cellulose acetate phthalate, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **50**, 11797–11807.
- [4] **Peng, Z., Li, Z. ve Shen, Y.** (2012). Preparation and in vitro characterization of gelatin microspheres containing 5-fluorouracil, *Journal of Macromolecular Science, Part B*, **51** (6), 1117-1124.
- [5] **Ashwanikumar, N., Kumar, N. A., Nair, S. A. ve Kumar, G.S.V.** (2014). Dual drug delivery of 5-fluorouracil (5-FU) and methotrexate (MTX) through random copolymeric nanomicelles of PLGA and polyethylenimine demonstrating enhanced cell uptake and cytotoxicity, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **122**, 520–528.
- [6] **Sastre, R. L., Olmo, R., Teijon, C., Muniz, E., Teijon ve J.M., Blanco, M.D.** (2007). 5-Fluorouracil plasma levels and biodegradation of subcutaneously injected drug-loaded microspheres prepared by spray-drying poly(d,l-lactide) and poly(d,l-lactide-co-glycolide) polymers, *International Journal of Pharmaceutics*, **338**, 180–190.
- [7] **Fournier, E., Passirani, C., Colin, N., Breton, P., Sagodira, S. ve Benoit, J.** (2004). Development of novel 5-FU-loaded poly(methylidene malonate 2.1.2)-based microspheres for the treatment of brain cancers, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **57**, 189–197.
- [8] **Dutta, R.K. ve Sahu, S.** (2012). Development of a novel probe sonication assisted enhanced loading of 5-FU in SPION encapsulated pectin nanocarriers for magnetic targeted drug delivery system, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **82**, 58–65.
- [9] **Lin, Y., Li, Y. ve Ooi, C.P.** (2012). 5-Fluorouracil encapsulated HA/PLGA composite microspheres for cancer therapy, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **23**, 2453–2460.
- [10] **Zhou, Z., Liu, L., Liu, Q., Zhao, Y., Xu, G., Tang, A., Zeng, W., Yi, Q. ve Zhou, J.** (2012). Study on controlled release of 5-fluorouracil from gelatin/chitosan microspheres, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, **49** (12), 1030-1034.

- [11] **Özsağiroğlu, T.B. ve Nasün-Saygılı, G.** (2015). The impact of gelatin weight ratio on hydroxyapatite-gelatin composites and their sbf behaviour, *Macromolecular Symposia*, **352**, 8–15.
- [12] **Santos, C., Rovath, C.F., Franke, R.P., Almeida, M.M. ve Costa, M.E.V.** (2009). Spray-dried hydroxyapatite-5-Fluorouracil granules as a chemotherapeutic delivery system, *Ceramics International*, **35**, 509–513.
- [13] **Kim, H.W., Knowles, J.C. ve Kim, H.E.** (2005). Porous scaffolds of gelatin–hydroxyapatite nanocomposites obtained by biomimetic approach: characterization and antibiotic drug release, *Journal Of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials*.
- [14] **Xiao, J., Zhu Y., Liu, Y., Zeng, Y. ve Xu, F.** (2009). An asymmetric coating composed of gelatin and hydroxyapatite for the delivery of water insoluble drug, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **20**, 889–896.
- [15] **Stigter, M., Bezemer, J., Groot, K. ve Layrolle, P.** (2004). Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy, *Journal of Controlled Release*, **99**, 127–137.
- [16] **Kim, H.W., Knowles, J.C. ve Kim, H.E.** (2005). Porous scaffolds of gelatin–hydroxyapatite nanocomposites obtained by biomimetic approach: characterization and antibiotic drug release, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **74** (2), 686-98.
- [17] **Vallet-Regi, M.** (2014). Bio-ceramics with clinical applications. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- [18] **Mucalo, M.** (2015). Hydroxyapatite (HAp) for biomedical applications. Elsevier B.V.
- [19] **Orlovskii, V. P., Komlev, V. S. ve Barinov, S. M.** (2002). Hydroxyapatite and Hydroxyapatite-based ceramics, *Inorganic materials*, **38** (10), 973-984.
- [20] **Toygun, Ş., Köneçoğlu, G. ve Kalpaklı, Y.** (2013). General Principles of sol gel, *Journal of Engineering and Natural Sciences*, **31**, 456-476.
- [21] **Jillavenkatesa, A. ve Condrate, R. A.** (1998). Sol-gel processing of hydroxyapatite, *Journal of Materials Science*, **33**, 4111-4119.
- [22] **Bader, R. A. ve Putnam, D. A.** (2014). Engineering polymer systems for improved drug delivery, John Wiley & Sons, Inc., New York.
- [23] **Suvakanta, D., Murthy, P. N., Nath, L. ve Chowdhury, P.** (2010). Kinetic Model on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Poloniae Pharmaceutica n Drug Research*, **67** (3), 217-223.
- [24] **Matyjaszewski, K. ve Möller, M.** (2012). Polymer science: A comprehensive reference. Elsevier B.V.
- [25] **Parikh, N. ve Parekh, K.** (2015). Technique to optimize magnetic response of gelatin coated magnetic nanoparticles, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **26**, 202.

- [26] Wu, D. C., Cammarata, C. R., Park, H. J., Rhodes, B. T. ve Ofner, C. M. (2013). Preparation, drug release, and cell growth inhibition of a gelatin: Doxorubicin conjugate, *Pharmaceutical Research*, **30**, 2087-2096.
- [27] Khan, H., Shukla, R. N. ve Bajpai, A. K. (2016). Genipin-modified gelatin nanocarriers as swelling controlled drug delivery system for in vitro release of cytarabine, *Materials Science and Engineering*, **61**, 457-465.
- [28] Santos, C., Rovath, C. F. , Franke, R. P., Almeida, M. M. ve Costa, M. E. V. (2009). Spray-dried hydroxyapatite-5-Fluorouracil granules as a chemotherapeutic delivery system, *Ceramics International*, **35**, 509-513.
- [29] Misra, A. ve Shahiwala, A. 2014. Applications of polymers in drug delivery, Smithers Rapra.
- [30] Teng, S., Chen, L., Guo, Y. ve Shi, J. (2007). Formation of nano-hydroxyapatite in gelatin droplets and the resulting porous composite microspheres, *Journal of Inorganic Biochemistry*, **101**, 686-691.
- [31] Bera, T., Vivek, A. N., Saraf, S. K. ve Ramachandrarao, P. (2008). Characterization of biomimetically synthesized Hap-Gel nanocomposites as bone substitute, *Biomedical Materials*, **3**.
- [32] Dou, X. C., Zhu, X. P., Zhou, J., Cai, H. Q., Tang, J. ve Li, Q. L. (2011). Minocycline-released hydroxyapatite-gelatin nanocomposite and its cytocompatibility *in vitro*, *Biomedical Materials*, **6**.
- [33] Sivakumar, M. ve Rao, K. P. (2002). Preparation, characterization and in vitro release of gentamicin from coralline hydroxyapatite-gelatin composite microspheres, *Biomaterials*, **23**, 3175-3181.
- [34] Masters, K. (1991). Spray drying handbook. John Wiley&Sons, Inc., NewYork.
- [35] Azami, M., Rabiee, M. ve Mostarzadeh, F. (2010). Glutaraldehyde crosslinked gelatin/hydroxyapatite nanocomposite scaffold, engineered via compound techniques, *Polymer Composites*.
- [36] Özsağiroğlu, T.B. (2016). *Polimer katkılı hidroksiapatit eldesi*. (Yayınlanmamış Doktora Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [37] Chang, M. C., Douglas, W. H. ve Tanaka, J. (2006). Organic-inorganic interaction and the growth mechanism of hydroxyapatite crystals in gelatin matrices between 37 and 80 °C, *Journal of Materials Science*, **17**, 387-396.
- [38] Martucci, J. F., Accareddu, A. E. M. ve Ruseckaite, R. A. (2012). Preparation and characterization of plasticized gelatin films cross-linked with low concentrations of glutaraldehyde, *Journal of Materials Science*, **47**, 3282-3292.
- [39] Lu, X. ve Leng, Y. (2005). Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid, *Biomaterials*, **26**, 1097-1108.
- [40] Bhat, S. K. ve diğ. (2012). Preparation and Characterization of Crosslinked Chitosan Microspheres for the Colonic Delivery of 5-Fluorouracil, *Journal of Applied Polymer Science*, **125**, 1736-1744.

- [41] **Lin, F. H. ve diğ.** (2002). A study of purified montmorillonite intercalated with 5-fluorouracil as drug carrier, *Biomaterials*, **23**, 1981-1987.
- [42] **Url-2** <<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?Spec=C51218&Index=0&Type=IR>>, erişim tarihi 20.04.2016.
- [43] **Kavitha, K., Srinivasa Rao, A. ve Nalini, C.N.** (2013). An investigation on enhancement of solubility of 5 Fluorouracil by applying complexation technique- characterization, dissolution and molecular-modeling studies, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **3** (3), 162-166.
- [44] **Panizzon, G. P., Bueno, F. G., Ueda-Nakamura, T., Nakamura, C. V. ve Filho, B. P. D.** (2014). Preparation of spray-dried soy isoflavone-loaded gelatin microspheres for enhancement of dissolution: Formulation, characterization and *in vitro* evaluation. *Pharmaceutics*, **6**, 599-615.
- [45] **Tummala, S., Kumar, M. N. S. ve Prakash, A.** (2015). Formulation and characterization of 5-Fluorouracil enteric coated nanoparticles for sustained and localized release in treating colorectal cancer *Saudi Pharmaceutical Journal*, **23**, 308-314.

ÖZGEÇMİŞ



Adı Soyadı : Ebru KAHRAMAN
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa, 1990
E-Posta : kahramaneb@itu.edu.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2014, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği